



Digitized by the Internet Archive
in 2015

<https://archive.org/details/b22296633>

2

RECHERCHES

DE CHIMIE MÉDICALE

SUR

L'HÉMATINE

(Étude médico-légale)

PAR

Paul CAZENEUVE,

Docteur en médecine de la Faculté de Paris,
Licencié en sciences naturelles, pharmacien de 1^{re} classe,
Ex-pharmacien interne des hôpitaux civils de Paris,
Lauréat de la Société de pharmacie de Paris,
Lauréat de la Société de pharmacie de Lyon,
Lauréat de l'École de médecine et de pharmacie de la même ville,
Membre de plusieurs sociétés savantes.



PARIS

GEORGES MASSON, ÉDITEUR

Libraire de l'Académie de médecine

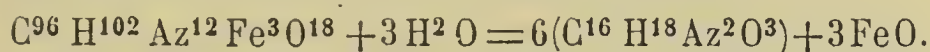
PLACE DE L'ÉCOLE-DE-MÉDECINE

—
1876

INTRODUCTION.

Les relations chimiques des matières colorantes animales entre elles, sont un important problème dont l'intérêt n'échappe à aucun physiologiste. La matière colorante du sang se transforme-t-elle en pigments biliaires? Quels sont les rapports de ces premières substances avec la matière colorante de l'urine? Ce sont là, autant de questions dont la solution, bien que soupçonnée demande une démonstration expérimentale.

On sait que la bilirubine diffère de l'hématine par du fer en moins, et par de l'hydrogène en plus.



On sait que l'hématoïdine de Robin, reconnue privée de fer par les analyses de Riche, est un homologue de la bilirubine.

L'urobiline, d'autre part paraît avoir été formée par Maly aux dépens de la bilirubine et de la biliverdine. En faisant réagir l'amalgame de sodium sur les pigments biliaires, il serait arrivé à un composé rouge brun (hydrobilirubine), trouvé par Jaffé et Stokvis identique avec l'urobiline (1873).

Nous rappellerons encore que la physiologie s'est emparée à plusieurs reprises de la question. Haumman en 1859, en injectant simplement de l'eau distillée dans les veines jugulaires d'un chien, produit des urines ictériques. L'eau détruisant une partie des globules, ces derniers abandonneraient leur matière colorante, l'hémoglo-

bine, qui subirait dans l'économie la transformation en bilirubine.

Nauyn, en 1868, reprit cette expérience, et n'arriva pas aux mêmes conclusions. Les injections de solution d'hémoglobine dans le torrent circulatoire n'auraient amené aucune trace de pigment biliaire dans l'urine.

Tarchanoff (1) en 1874, étudie de nouveau la question dans le laboratoire d'Hoppe-Seyler. Il confirme les assertions d'Haumman. 100 à 150 gr. d'une solution d'hémoglobine, injectés dans les veines jugulaires d'un chien, font apparaître dans l'urine le pigment biliaire.

Sans discuter la valeur de ces expériences, nous voyons les tentatives faites pour arriver à la démonstration de la transformation des matières colorantes de l'économie les unes dans les autres.

La pathologie elle-même, s'efforçant de distinguer les ictères hématiques des ictères biliaires, a trouvé dans le premier groupe de maladies une augmentation notable de l'urobiline de l'urine, coïncidant avec la disparition de la teinte subictérique de la peau.

Nous ne citerons après les travaux de Gubler et les observations remarquables de Germain Sée, que le travail de notre ami le Dr Poncet de Lyon, sur l'ictère hématique traumatique, où il met en relief la teinte jaune que prennent les tissus par résorption des vastes épanchements sanguins, et l'apparition subséquente d'une forte proportion d'urobiline dans l'urine (2).

Mais il est aisé de comprendre que les recherches sur

(1) Ueber die Bildung von Gallenpigment aus Blutfarbstoff in Thierkorper. — Formation du pigment biliaire aux dépens de la matière colorante du sang dans l'économie animale.

(2) A. Poncet. De l'ictère hématique traumatique, 1874 (Masson).

cette importante question ne feront un pas sérieux que dans les mains du chimiste. Le physiologiste, en mettant en expérimentation des animaux, demande somme toute, des réactions à un ensemble d'appareils complexes dont nous connaissons à peine les fonctions normales. Comment analyser les résultats? Comment préciser le mode d'action? Comment toucher du doigt là métamorphose? Tel cet ignorant qui voit une feuille blanche sortir imprimée de la machine typographique, sans saisir le fonctionnement de l'appareil producteur. Le physiologiste sera réduit à des conjectures sur les réactions qu'il impose en quelque sorte au laboratoire vivant, ce dernier lui rendant souvent des produits en échange de produits donnés, sans lui fournir autre chose que des présomptions sur une transformation directe et immédiate.

A la chimie de recourir à ses appareils simples et précis pour éclairer la question.

L'étude régulière des dédoublements, des métamorphoses de l'hématine est une première étape dans cette voie ardue d'investigation; elle prépare les conclusions sur ses connexions immédiates avec la bilirubine, l'urobiline.

Toucher à ce sérieux problème, et en faire jaillir quelque lumière a été notre premier projet. Mais nous nous sommes aperçu que l'hématine était peu connue dans ses propriétés générales, qu'elle donnait lieu souvent à des appréciations contradictoires. Aussi, nous sommes-nous borné à une étude générale sur un produit pur, afin de contrôler les faits acquis à la science, et ajouter s'il était possible des notions nouvelles.

Notre tâche est donc restée limitée à un cadre plus

étroit. Viendront plus tard, des recherches sur la véritable constitution de l'hématine, recherches qui doivent offrir à la physiologie un premier aperçu de ces données chimiques, si propres à éclairer les métamorphoses intimes de l'organisme.

En présence des procédés de préparation plus ou moins longs, proposés pour extraire l'hématine du sang, nous avons cherché une méthode qui joigne à la rapidité toutes les garanties possibles d'innocuité dans le traitement, afin d'opérer sur le produit réel de dédoublement de l'hémoglobine. Nous avons employé, comme véhicule d'extraction, l'éther chargé d'acide oxalique, que nous avons fait agir sur le sang coagulé. Saturant l'excès d'acide à l'aide de l'éther ammoniacal, nous avons obtenu un précipité d'hématine, que des lavages à l'éther et à l'eau, nous ont donné très-pure.

M. Wurtz, dans son cours de chimie biologique de cette année, a donné pleine sanction à notre procédé, qui a fourni entre les mains de son habile préparateur M. Henninger, comme entre nos mains, un brillant résultat.

Depuis la publication de notre première méthode, nous avons trouvé dans l'emploi de l'éther acétique acide, un véhicule bien précieux. Le sang, coagulé par le mélange d'alcool et d'éther, est réduit par l'emploi de l'éther acétique avec excès d'acide acétique à une poudre albumineuse complètement incolore, et cela très-rapidement. Nous recommandons également ce deuxième procédé qui peut être mis en œuvre en quelques minutes dans un cours sous les yeux des élèves.

Avec des moyens d'obtention aussi avantageux, notre étude générale a dû certainement porter sur une matière

pure, et par suite, présenter une importance réelle. Les faits que nous établissons dans le cours de ce travail, reposent donc sur une base solide, et par suite, échappe à toute critique,

Ce travail sur l'hématine doit être suivi, nous le répétons, de recherches approfondies sur les dédoublements, afin de prendre un caractère scientifique de longue portée. Nous nous proposons à cet effet d'installer en grand un appareil pour l'extraction de l'hématine. En possession d'une cinquantaine de grammes de substance, nous verrons peut-être s'ouvrir à nous de nouveaux horizons, nous pourrons préparer une solution à ce problème, que l'analyse micro-chimique seule est impuissante à résoudre.

A cette heure, nous prions nos juges de se montrer indulgents pour nos premiers pas dans cette voie délicate, où la difficulté doit excuser bien des faiblesses, ménageant rarement au chercheur les surprises réconfortantes de vérités nouvelles.

RECHERCHES
DE
CHIMIE MÉDICALE
SUR
L'HÉMATINE
(Étude médico-légale)

CHAPITRE PREMIER.

HISTORIQUE.

Si on verse goutte à goutte de l'éther dans du sang dé-fibriné, en agitant sans cesse jusqu'à ce qu'il ait pris un aspect gelée de groseille, on remarque que l'on n'a bientôt plus qu'une pulpe de cristaux microscopiques. Ces cristaux ne sont autre chose que la matière colorante normale du sang ou hémoglobine, qui suivant l'animal se présente sous forme de prismes, de tables rhomboïdales ou de tétraèdres.

Sans insister sur les propriétés de l'hémoglobine, nous rappellerons qu'elle peut être envisagée comme le produit de l'association d'une matière colorante particulière appelée hématine, et d'une matière albuminoïde peu

connue. On sait également que, sous l'influence de la plupart des alcalis même faibles, des acides même étendus, que sous l'influence de l'eau chaude cette hémoglobine est modifiée, qu'elle paraît se transformer précisément en cette hématine restée liée mécaniquement au principe protéique.

Quelle est la nature de cette hématine ? Quelles sont ses propriétés ? Peu de problèmes ont soulevé des opinions plus contradictoires depuis Lecanu, qui, le premier, jeta quelque jour sur la question ; jusqu'à Hoppe-Seyler qui, définitivement à mon sens, a obtenu le véritable principe immédiat cherché et a reconnu sa composition vraie.

Chevreul, Sanson, Mulder et autres prétendent que l'hématine est exempte de fer, qu'elle est insoluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool et l'éther. Berzelius, Lecanu, font entrer le fer dans les véhicules précités. Hoppe-Seyler, partageant ces idées, assigne à l'hématine la formule $C^{96}H^{102}Az^{12}Fe^3O^{18}$.

Sans aucun doute les procédés d'obtention de cette hématine peuvent seuls nous expliquer ces propriétés et cette constitution différentes que lui prêtent divers chimistes. Si dans la préparation de cet élément on fait intervenir un agent énergique, on arrive certainement à des résultats que l'emploi d'une substance moins active sera loin de justifier. On détruit l'équilibre moléculaire du principe immédiat, on obtient un produit de métamorphose, d'altération, que l'on qualifie à tort de produit cherché.

Sanson (1) a recours à l'acide sulfurique concentré

(1) Sanson, *Journ. de pharm. et de chim.* 1835, t. XXI, p. 420.

pour la préparation de l'hématine, et prétend tirer des conclusions sur le produit échappé d'un traitement aussi brutal. On sait d'ailleurs aujourd'hui que le corps obtenu dans cette opération se rapprocherait de la bilirubine de la bile. Mulder a obtenu un corps identique.

Dernièrement encore MM. Paquelin et Joly ne se sont pas mis, à notre avis, à l'abri de cette cause d'erreur en faisant intervenir dans la préparation de l'hématine des agents trop énergiques (1). Ils font macérer pendant huit jours des globules secs et pulvérisés dans l'alcool à 90 degrés additionné de 10 pour 100 d'ammoniaque. Ils filtrent et épuisent ces globules par de nouvelles macérations dans le même liquide. Les liqueurs sont réunies, puis distillées, pour retirer l'alcool. Il reste au fond de la cornue de l'hématine pulvérulente et un peu d'eau. On recueille cette hématine sur un filtre, on la lave, la sèche et on l'introduit dans un ballon avec cinq fois son poids d'acide acétique cristallisable. Le tout est soumis à une digestion de plusieurs heures, à une température qui ne dépasse pas 50 degrés; enfin, au moyen de la benzine et du sulfure de carbone on sépare le pigment qui contient encore du fer. « Pour distraire le fer du pigment hématique, disent ces expérimentateurs, il faut procéder de la façon suivante : le dissoudre dans environ dix fois son poids d'acide acétique, additionner la liqueur d'une quantité d'acide citrique en poudre égale au quart de l'acide acétique employé, chauffer à une douce température pour favoriser la dissolution de cet acide, verser dans le mélange une cer-

(1) Comptes-rendus de l'Académie des sciences, -t. LXXIX (190 tit., 1874, n° 16).

taine quantité d'eau, porter à l'ébullition pendant un quart d'heure pour hâter la dissolution du fer. »

Je n'achève pas de décrire le procédé. Répétant les expériences de MM. Paquelin et Joly, soit avec l'acide citrique, soit avec l'acide tartrique, nous avons vu en effet que ces acides en solution concentrée enlevaient à l'hématine son fer au bout de quelque temps d'ébullition. Mais nous n'hésitons pas à qualifier de produit d'altération le résidu de ce traitement énergique. Nous verrons plus loin qu'opérant à froid avec des acides étendus, nous obtenons des sels d'hématine nettement cristallisés et par suite définis, qui toujours contiennent du fer dans leur molécule. L'expérience nous a démontré que toute ébullition de l'hématine avec les acides en présence de l'eau, altère plus ou moins ce principe immédiat. Les acides minéraux ont une action plus prompte que les acides organiques, dont l'influence n'est pas moins réelle. L'acide acétique semblerait toutefois plus innocent.

Il ne répugne pas plus d'ailleurs d'admettre le fer dans la molécule de l'hématine que le zinc, le mercure et autres métaux en combinaison avec des radicaux organiques, comme la chimie nous en offre de nombreux exemples. Citerai-je encore le corps intéressant que M. Bong (1) a obtenu en faisant réagir dans certaines conditions le cyanure de potassium sur le sulfate de cuivre et un sel de fer. Ce corps, belle matière colorante rouge contient du fer dans sa molécule. Et tous les prussiates ne nous offrent-ils pas ce caractère ?

L'organisme animal nous présente d'autres fois ce

(1) Voir Bong, Bulletin de la Société chimique, 1875.

genre de combinaison. Il suffit de traiter l'urine normale par un excès d'ammoniaque pour voir que le fer n'est précipité qu'en partie. Une autre portion paraît rester en combinaison avec les matières extractives qui ne l'abandonnent qu'en recourant à la calcination. Nous pourrions aller loin dans l'exposé des cas analogues.

Nous ne comprenons plus alors l'idée préconçue de MM. Paquelin et Joly sur la composition de l'hématine, et la série d'expériences qu'ils ont instituées pour précisément dépouiller ce pigment de son fer et décomposer somme toute, la molécule.

MM. Robin et Verdeil, dans leur *Traité de chimie anatomique* (1), donnent également leur procédé de préparation qui aboutit à un produit soluble dans l'alcool et l'éther. Le sang est coagulé, pressé, traité par l'alcool alcalinisé avec quelques gouttes de carbonate de soude. L'alcool coloré en rouge intense est filtré, puis agité avec un lait de chaux. La chaux entraîne la matière colorante sous forme de laque que l'on décompose par l'acide chlorhydrique ; on lave le coagulum albumineux à l'éther, puis on traite par l'alcool bouillant qui entraîne la matière colorante. Ajoutant un peu d'éther pour précipiter quelques matières entraînées par l'alcool, on distille sur une certaine quantité d'eau. La poudre noirâtre ainsi formée est soluble dans l'alcool et dans l'éther.

Nous avons reproduit ponctuellement la méthode de MM. Robin et Verdeil, et sommes tombés finalement sur un corps soluble, en effet, dans l'alcool et dans l'éther. Mais l'analyse nous a démontré qu'il représente

(1) Robin et Verdeil. Chimie anatomique, t. III, p. 383.

une combinaison d'acide chlorhydrique, probablement avec un dérivé de l'hématine, ce que tendent à prouver certaines considérations que nous exposerons plus loin.

L'hématine de Wittich (1), elle, doit sa solubilité dans l'alcool à un excès d'alcali. Notre manière de voir se trouve d'ailleurs confirmée par d'autres expérimentateurs, et en particulier par Gorup-Besanez (2).

Les reproches que nous pourrions adresser dans cet aperçu historique à l'hématine de Brand, de Vauquelin, de Berzelius, de Lecanu, sont d'un autre ordre. Les substances isolées, par ces divers chimistes, ne sont pas des produits d'altération, mais des mélanges d'hématine et d'albumine que leurs procédés ne pouvaient séparer. Lecanu cependant avait déjà perfectionné sa méthode. A l'aide du sous-acétate de plomb et de l'alcool, il était parvenu à préparer, considérablement dégagée des matières albuminoïdes, une matière colorante qu'il désigna sous le nom de globuline (3).

Mais ce n'est pas là le principe immédiat qui réalise les conditions de pureté suffisante pour être soumis à l'analyse élémentaire.

Il nous faut arriver à Hoppe-Seyler pour avoir le véritable procédé de préparation de l'hématine pure et inaltérée. Le seul reproche à lui faire est sa longueur, les cristaux d'hémine sur lesquels opère le chimiste allemand exigeant des semaines pour se déposer. Ce sont les raisons qui nous ont déterminé à chercher un moyen plus expéditif.

Hoppe-Seyler, en effet, prend du sang défilbriné qu'il

(1) *Journ. de pharm. et de chim.*, t. LXI, p. 11.

(2) Gorup-Besanez, *Lehrbuch physiologischen Chemie*, p. 164.

(3) Lecanu. *Journ. de pharm. et de chim.*, 1830, t. XVI, p. 734.

étend de un à deux volumes d'eau. Il traite par le sous-acétate de plomb et précipite l'excès de plomb par une solution de carbonate de soude. Après un repos suffisant, on décante et l'on évapore dans le vide sur l'acide sulfurique. Le résidu pulvérisé est broyé avec quinze ou vingt parties d'acide acétique cristallisable ; on ajoute du chlorure de sodium en petite quantité, on agite pendant quelques heures, puis l'on chauffe deux heures au bain-marie. Cette solution additionnée de cinq fois son volume d'eau est abandonnée à elle-même quinze jours et plus. Il se dépose des cristaux d'hémine, ou chlorhydrate d'hématine, que l'on reprend par l'acide acétique pour les faire cristalliser de nouveau. On dissout ensuite les cristaux dans l'ammoniaque, on évapore au bain-marie, puis l'on chauffe longtemps à 130 degrés. Il suffit de reprendre par l'eau distillée pour enlever le chlorhydrate d'ammoniaque formé et obtenir l'hématine pure.

Ce procédé long, mais exact, ne pouvait être remplacé que par une méthode joignant à une exactitude aussi rigoureuse la rapidité de l'exécution. Les recherches, que nous avons entreprises dans cette voie, semblent avoir abouti à ce moyen de préparation très-sûr et très-rapide. Nous allons l'exposer.

CHAPITRE II.

PRÉPARATION DE L'HÉMATINE.

(*Procédés Cazeneuve*)

1^{er} *procédé*. — Nous prenons un litre de sang que nous dépouillons préalablement de la plus grande partie de

Cazeneuve.

2

sa matière albuminoïde par un ou deux lavages avec une solution de chlorure de sodium au dixième. Denis a montré depuis longtemps qu'une solution de chlorure de sodium au dixième, dans la proportion de dix volumes pour un de sang, n'altère pas les globules et permet de les recueillir par le repos et la décantation. Il faut attendre vingt-quatre heures que les globules se déposent, et ne pas opérer à une température trop supérieure à 40 degrés, sous peine de voir une partie des globules s'altérer et une certaine quantité de matière colorante entraînée dans les lavages. Les globules, après décantation aussi minutieuse que possible, sont mis dans un ballon et additionnés de deux fois leur volume d'éther à 56 degrés, qui contient toujours, comme on sait, une certaine quantité d'alcool (environ 25 à 30 pour 100). On agite fortement deux ou trois fois, puis on laisse en repos pendant vingt-quatre heures. La coagulation du sang, lente avec l'éther à 56 degrés, est toujours complète au bout de ce laps de temps. Inutile d'ajouter que cette action coagulante de l'éther à 56 degrés est due à la présence d'une certaine proportion d'alcool. L'éther pur et anhydre détruit les hématies sans coaguler la matière albuminoïde.

Le coagulum est recueilli sur un filtre où on laisse s'égoutter sans expression. Porté ensuite dans un mortier, il est traité par un kilogramme d'éther à 56 degrés, tenant en dissolution 20 grammes d'acide oxalique. On ajoute l'éther peu à peu, on agite avec le pilon pour favoriser la réaction de l'éther acide. Au bout d'une minute ce dernier est fortement coloré en rouge brun. On décante sur un filtre, on ajoute le reste de l'éther dissolvant, on s'aide du pilon, et l'on jette finalement sur

le filtre la totalité de la matière. On lave avec de l'éther à 56 degrés, ce qui s'effectue facilement et rapidement, en ayant soin de renouveler les couches avec une baguette de verre. Le magma sanguin se trouve complètement décoloré dans cette manipulation.

La teinture obtenue renferme l'hématine dissoute dans l'éther à la faveur de l'acide oxalique, des corps gras, des acides gras, de la lécithine, de la cholestérine, etc. Il s'agit d'isoler la matière colorante de ces substances étrangères. Pour cela, nous avons recours à une solution éthérée de gaz ammoniac, obtenue, soit par un courant de gaz dans l'éther à 56 degrés avec de l'ammoniaque pure, à volumes égaux. J'ajoute goutte à goutte le réactif alcalin en agitant la teinture renfermée dans un ballon à fond plat. Le premier résultat est de former un oxalate d'ammoniaque insoluble dans l'éther, qui gagne le fond du liquide ou adhère aux parois du récipient. Nous conseillons, lorsque le dépôt paraît assez abondant, de décantier la teinture dans un autre matras, ce qui s'exécute très-facilement. L'expérience indiquera à l'expérimentateur le moment propice à ce temps de l'opération. On évite ainsi de trop longs lavages à l'eau pour dépouiller l'hématine de l'oxalate d'ammoniaque qui s'y trouve finalement mêlée après précipitation complète.

Nous continuons à verser goutte à goutte l'éther ammoniacal, en agitant et regardant de temps en temps à travers le col du matras incliné contre le jour si des flocons bruns n'apparaissent point en suspension dans le liquide. Le passage de la teinte rouge brun de la teinture à une coloration approchant du jaune brun est un indice de la précipitation de la matière colorante. On agite fortement et on laisse en repos vingt-quatre heures. La pré-

cipitation s'achève d'elle-même, en même temps que l'hématine prend de la cohésion et se précipite au fond du récipient. Il suffit de décanter l'éther à peine coloré, de recevoir le dépôt sur un filtre et de laver à l'éther pour déplacer la liqueur mère et enlever toute trace de matières grasses (1), à l'aide d'une spatule de platine on enlève le mélange d'hématine et d'oxalate d'ammoniaque que l'on porte au sein de l'eau distillée additionnée de quelques gouttes d'acide acétique. L'oxalate d'ammoniaque est dissous. L'acide acétique facilite la précipitation de l'hématine au sein de l'eau et la fait se rassembler en flocons. Après des lavages sur le filtre à l'aide de l'eau distillée chaude, acidulée par l'acide acétique, et ensuite de l'eau distillée pure, on achève le lavage par un peu d'alcool, et on dessèche l'hématine à l'air libre.

Tant que l'hématine n'est pas dépouillée de l'oxalate d'ammoniaque, il faut se garder de faire intervenir l'alcool dans les lavages. Ce dernier, en effet, dissout l'hématine à la faveur de l'oxalate d'ammoniaque. L'eau elle-même si elle n'est pas additionnée d'un peu d'acide acétique dissout un peu d'hématine.

Voici l'essai que nous avons fait pour nous rendre compte de la solubilité de l'hématine dans l'alcool à la faveur de l'oxalate d'ammoniaque. De l'hématine encore mélangée d'oxalate d'ammoniaque sur le filtre traitée par l'alcool. La teinture est très-foncée. Nous étendons d'eau ; pas de précipitation d'hématine au bout de 24 heures. Cette solution d'hydraulcoolique d'hématine

(1) Après précipitation par l'éther ammoniacal, l'éther conserve une teinte légèrement jaunâtre sans trace d'hématine, comme il est facile de s'en assurer au spectroscope.

est divisée en 2 portions ; l'une est additionnée de quelques gouttes d'acide acétique, l'autre de quelques gouttes d'une solution de chlorure de calcium. Dans les deux cas l'hématine s'est précipitée en flocons par neutralisation d'influence de l'oxalate d'ammoniaque. Ces conditions de solubilité de l'hématine, à la faveur des sels, sont intéressantes à noter.

L'emploi de l'éther ammoniacal que nous prescrivons dans la seconde phase de l'opération peut paraître de prime abord difficile. Il n'en est rien. Il est aussi simple d'arriver à la limite de saturation indiquée, par l'éther ammoniacal, qu'il est aisé de faire un dosage alcalimétrique avec la teinture de tournesol, grâce au virement de couleur. Si l'on versait imprudemment l'éther ammoniacal et que l'on dépassât le but cherché, immédiatement la solution prendrait la teinte rouge dicroïque caractéristique de l'hématine, verte par réflexion, rouge par transmission. Dans ce cas malheureux de la manipulation, il est facile de revenir aux conditions primitives avec de l'éther à 56 degrés acidifié par l'acide oxalique. L'inconvénient est de charger inutilement ses liqueurs d'oxalate d'ammoniaque.

Nous ferons remarquer, malgré la longueur apparente de la description, la facilité et la rapidité de l'exécution du procédé que nous préconisons, et qui peut se résumer en quelques lignes :

« Laver les globules d'un litre de sang avec dix litres de solution de chlorure de sodium au dixième. Décanter et agiter les globules avec deux fois leur volume d'éther à 56 degrés. Après vingt-quatre heures décanter de nouveau, et traiter le coagulum par l'éther à 56 degrés, contenant 2 grammes pour 100 d'acide oxalique. Filtrer et saturer la teinture par de l'éther ammoniacal.

Après vingt-quatre heures recueillir le précipité, le laver à l'éther, à l'alcool et à l'eau. »

Le chlorure de sodium que nous employons dans la première partie de notre opération a l'avantage incontestable d'éliminer une grande partie des matières albuminoïdes dont le coagulum abondant exigerait l'intervention subséquente d'une quantité d'éther considérable. Toutefois, il a un inconvénient qu'il est bon de discuter ici; il contracte fortement les globules. La matière albuminoïde du stroma de ces derniers, une fois l'action coagulante de l'éther exercée, se présente sous forme de masse élastique dure, qui nous offre tous les caractères physiques que nous allons précisément reconnaître défavorables à l'extraction de la matière colorante. L'action de l'éther chargé d'acide oxalique sera plus lente.

Avec le chlorure de sodium on évite l'emploi d'une grande quantité d'éther, mais en revanche la matière albuminoïde se dépouille plus difficilement de l'hématine. On pourra donc, si l'on veut, supprimer ce premier traitement. Nous tenions à insister sur le *modus operandi* proprement dit, afin d'éviter à l'opérateur la série de tâtonnements qu'impose toujours une description approximative sans détails minutieux et circonstanciés.

En trois ou quatre jours au plus, on obtient de l'hématine pure que le procédé d'Hoppe-Seyler ne donne qu'au bout de quelques semaines. Bien qu'on perde un peu d'éther dans les manipulations, on peut en recueillir la plus grande partie par distillation, et parer, par des soins, au seul inconvénient qui s'offre à nous, la perte d'un produit coûteux.

Mais pourquoi cet éther à 56 degrés? Pourquoi ne pas exprimer le coagulum? Pourquoi limiter l'acidification de l'éther employé comme dissolvant?

La justification de notre procédé apporte autant d'éclaircissements sur la chimie du sang ; aussi croyons-nous opportun d'y insister quelques instants.

Si nous coagulons brusquement le sang par deux fois son volume d'alcool fort, par exemple, la coagulation est immédiate sous forme de petites granulations albuminoïdes fort rétractées, L'éther acide se trouve avoir peu de prise sur ce coagulum albumineux qui retient cette fois énergiquement la matière colorante qu'il n'abandonne jamais complètement, L'éther à 56 degrés, au contraire, dont l'action coagulante est lente, mettra l'albumine dans un état physique plus favorable à l'extraction des matières mélangées, Mais nous ajoutons qu'il faut se garder d'exprimer le coagulum, sous peine de détruire précisément cet état physique nécessaire pour les suites de l'opération. On transforme le tout par la pression en une masse élastique dure, cohérente, que le véhicule faiblement acide, que nous employons, ne peut plus pénétrer.

En coagulant le sang par l'éther à 56 degrés, on enlève au sang une matière colorante jaune spéciale signalée par Sanson, en 1835, sans qu'elle ait été étudiée par

(1) Nous avons essayé d'isoler cette matière colorante jaune du liquide sanguin. L'alcool éthéré, qui a servi à la coagulation, la contient en quantité assez notable pour présenter à l'œil une belle teinte dorée.

Distillant cet éther, nous avons fait bouillir le résidu, dans un essai, avec la chaux ; dans un autre essai, avec de l'oxyde de plomb récemment précipité. Nous voulions saponifier les matières grasses qui souillaient la matière colorante. Malheureusement, la présence des lécithines et de quelques matières extractives nous a empêché d'obtenir rien de défini. Les essais que nous avons faits pour obtenir un corps cristallisé ont été vains. Il faudrait, d'ailleurs, disposer de quantités plus considérables pour tenter un mode de purification

cet auteur (1). Coagule-t-on brusquement par l'alcool fort, il est impossible de soustraire ensuite au coagulum par l'éther ce principe colorant que l'albumine retient dans un réseau serré et impénétrable. On doit prévoir, par suite, que le sang desséché sera bien autrement rebelle. Nous avons fait l'expérience. Du sang desséché au

sérieux, et la soustraire aux matières étrangères nombreuses auxquelles elle se trouve mélangée. Une source plus abondante de cette matière, qui permettrait alors d'en aborder sérieusement l'étude, réside dans le sérum des abattoirs.

Le sérum de sang de bœuf, qui s'isole du caillot formé, laisse quelquefois apparaître des flocons jaunes qui se rassemblent à sa surface. Ces flocons se dissolvent dans l'éther avec la teinte jaune dorée signalée plus haut. Ils sont constitués incontestablement par une forte proportion de matières grasses et d'un peu de cette matière colorante. Seulement, cette apparition n'est pas constante.

Si la coagulation par l'alcool éthéré permet de soustraire au sang une matière colorante, jaune, particulière, elle se prête encore à l'extraction de la plupart des principes immédiats contenus dans le sang. La coagulation lente de la matière albuminoïde ne détermine pas la formation de ce réseau qui enlace, en se formant, l'une des matières. Au microscope, le sang coagulé par l'alcool éthéré est un amas de granulations très-ténues, qui n'ont entre elles aucune adhérence cohésive.

Veut-on rechercher dans le sang l'urée, par exemple, on est sûr de la soustraire par cette méthode, comme nous avons pu d'ailleurs nous en assurer sur du sang d'urémique que l'on a mis à notre disposition. Nous avons opéré sur 43 grammes de sang. La solution étheralcoolique des parties solubles, après coagulation, a été évaporée. Le résidu a été épuisé par l'eau distillée. Cette dernière, évaporée, nous a donné, avec l'acide azotique, des cristaux caractéristiques d'azotate d'urée.

Certains principes toxiques de nature organique, même quelquefois de nature minérale, peuvent être soustraits directement au sang par cette méthode, qui ne repose, après tout, que sur l'étude raisonnée de la formation du coagulum albumineux. Dans le cas d'alcaloïdes, il suffira de soumettre à l'évaporation la solution étheralcoolique, provenant du traitement du sang défibriné, de reprendre par l'éther pur et d'agiter ce dernier avec de l'eau acide, qui entraîne généralement la base organique. Suivant l'alcaloïde, suivant l'élé-

bain-marie, pulvérisé et tamisé au tamis de soie, a été traité par l'éther à 56 degrés, saturé par les acides les plus énergiques. Ce n'est qu'au bout d'un long temps de macération que nous sommes parvenu à soustraire des traces d'hématine à cette albumine dure et cornée. Ces considérations expliquent pourquoi nous avons été rebuté, lorsque nous avons voulu appliquer notre éther acide à la reconnaissance des taches de sang en médecine légale.

Nous croyons la quantité de 2 pour 100 d'acide oxalique, en solution dans l'éther, suffisante pour l'extraction rapide de l'hématine. Un véhicule trop acide a le grave inconvénient de gonfler la matière albuminoïde,

ment à isoler, on terminera l'opération d'une façon différente que nous laissons à l'inspiration de l'expert.

Ce procédé de coagulation par l'éther alcoolique doit permettre également d'isoler la matière albuminoïde du sérum, la sérine, et de l'avoir très-pure. Le sérum, étendu de deux fois son volume d'eau, est traité par de l'acide acétique étendu jusqu'à ce qu'il ne se fasse plus de précipité. La caséine et la paraglobuline se précipitent. La liqueur filtrée, et très-légèrement alcalinisée, est soumise à la dialyse dans un dialyseur en baudruche, au milieu d'eau souvent renouvelée. Au bout de peu de temps, toutes les parties dialysables, peptones, fibrine soluble, matières extractives, sels minéraux, sont entraînées par l'eau. Il reste en solution une sérine encore souillée de matières grasses, de lécithines etc., que les auteurs se contentent généralement d'évaporer dans le vide. Nous proposons de terminer l'opération par une coagulation à l'aide de l'éther alcoolique, afin d'éliminer précisément une certaine quantité de matières échappées aux précédents traitements. et compromettant la pureté du produit définitif. Nous contentant d'évaporer dans le vide jusqu'à consistance de sirop très-clair, nous ajoutons à la solution de sérine deux fois son volume d'éther à 56 degrés. Au bout de 24 heures, nous décantons et lavons à l'éther, jusqu'à ce que ce dernier ne donne aucun résidu par évaporation. La sérine, ainsi coagulée sous forme de granules microscopiques, sera séchée rapidement à l'air.

de la transformer en une masse comme gélatineuse, que les lavages les plus patients ne dépouillent pas de sa matière colorante d'une façon complète. En revanche, l'éther fortement acide entraînera de l'albumine, ou un produit de sa modification, qui souillera l'hématine difficile à purifier.

Le procédé de préparation de l'hématine, que nous avons institué après une étude approfondie de la constitution du liquide sanguin, permet, comme on le voit, de préparer rapidement de l'hématine pure, nous devrions même ajouter économiquement. Car l'éther employé peut être recueilli à peu près complètement par la distillation. Toutefois nous ne nous dissimulons pas que si l'on effectue les manipulations en été, les décantations et les filtrations ont bientôt livré à l'atmosphère une large partie du véhicule; en hiver, cet inconvénient est partiellement conjuré.

Pour une préparation de cours notre procédé assurément se recommande de lui-même. Mais lors qu'il s'agira de préparer une notable quantité d'hématine pour étudier précisément ses dérivés, ce maniement d'une énorme quantité d'éther demandera une installation réellement industrielle et spéciale.

Un grand appareil de fer blanc, muni à la partie inférieure d'un robinet et fermé supérieurement par un couvercle à vis, sera très-commode pour une opération en grand. On pourra ménager dans le centre de la face supérieure du couvercle un orifice propre à introduire un agitateur, destiné à remuer les couches du magma albuminoïde à épuiser. La coagulation et l'épuisement pourront s'effectuer dans l'appareil sans aucune décantation ou filtration. L'éther qui aura servi à la coagula-

tion, une fois écoulé par le robinet inférieur, sera remplacé par le véhicule acide que l'on écoulera à son tour après macération et agitation. Le récipient inférieur pourra être disposé de manière à recevoir l'éther sans craindre sa volatilisation.

L'opération deviendra plus difficile, lorsqu'il s'agira de saturer par de l'éther ammoniacal de grandes masses d'éther acide. Apprécier la limite de saturation au sein de récipients peu maniables est une tâche pénible, bien que l'on puisse agir en plusieurs fois au sein de flacons en verre blanc. Le choc des couches supérieures du liquide contre les parois par l'agitation suffira pour indiquer l'hématine acide ou alcaline.

Deuxième procédé de préparation de l'hématine. — Nous avons tenté un autre mode de préparation de l'hématine en vue d'abrégé encore s'il était possible la longueur des manipulations. Nous avons atteint notre but par l'emploi de l'éther acétique.

On sait que ce liquide s'obtient très-facilement en traitant trois parties d'acétate de potasse par un mélange de trois parties d'alcool fort et de deux parties d'acide sulfurique. Si on emploie cet éther acétique tel que le livre le commerce, on utilise un produit impur qui renferme une certaine proportion d'eau d'alcool, et d'acide acétique libre. Ce mélange est très-favorable à l'extraction de l'hématine. Si l'éther acétique est pur, c'est-à-dire exempt d'acide acétique, son action vis-à-vis du sang est nulle. La présence de l'acide acétique libre est indispensable. Il transforme d'abord l'hémoglobine en hématine et dissout ensuite cette dernière.

Nous coagulons le sang défibriné avec l'éther pur

mélangé de 30 p. 100 d'alcool. Au bout de vingt-quatre heures, nous décantons le liquide coagulateur comme dans notre premier procédé. Le coagulum non exprimé est traité par l'éther acétique, qui le décolore très-rapidement, Plusieurs lavages à l'éther acétique laissent le magma albumineux incolore.

Nous avons remarqué qu'aucune trace de matière albuminoïde n'était entraînée par l'éther acétique.

Nous additionnons l'éther acétique de deux fois son volume d'eau. La majeure partie de l'éther et la presque totalité de l'acide acétique libre passent dans l'eau. Cette dernière est surnagée finalement, après forte agitation par une faible couche d'éther tenant en suspension l'hématine. A l'aide d'un entonnoir à robinet, on recueille la partie supérieure où figure l'hématine sous forme pulvérulente. On jette sur un filtre, on lave à l'eau bouillante jusqu'à ce que l'éther acétique et l'acide acétique soient complètement entraînés. On lave à l'alcool et à l'éther, et on fait sécher l'hématine à l'air libre. Elle se présente avec tous les caractères que nous lui connaissons.

Nous avons fait un dosage de fer afin de nous assurer de sa pureté. Notre essai a porté sur une quantité très-faible, et malgré ces conditions défavorables, nous avons obtenu une quantité de fer correspondant à la teneur habituelle de l'hématine. 0 gr. 0651 de matière nous ont donné 0,0079 de peroxyde de fer, autrement dit 12 gr. 15 p. 0/0. Tenant compte de la faible quantité de matière sur laquelle nous avons opéré, nous pouvons considérer le chiffre 12 gr. 15 comme le fer d'un produit parfaitement pur, exempt de matières albuminoïdes. Ces dernières substances étaient particulièrement à redouter.

Au point de vue de la préparation en grand, notre procédé par l'éther acétique offre de singuliers avantages de rapidité et même d'économie.

En deux jours, on obtient la totalité de l'hématine du sang ; et l'éther acétique est recueilli à peu près intégralement par distillation. Pour épuiser un litre de sang coagulé, il faut 3 kilogr. environ d'éther acétique. La décoloration de la matière albuminoïde est alors complète. Une fois desséchée elle n'a plus qu'une teinte légèrement grisâtre.

Le procédé par l'éther acétique offrirait le petit inconvénient de nous présenter l'hématine sous cet état moléculaire qui résulte de l'action de la chaleur, et s'oppose aux combinaisons directes et rapides de l'hématine avec l'acide chlorhydrique et bromhydrique au sein de l'éther. Nous ne retrouvons pas là cet état gélatineux particulier de l'hématine, obtenue dans notre premier procédé par saturation à froid de l'acide oxalique qui la tient en dissolution.

Dans un cours où l'on voudra montrer aux élèves les préparations extemporanées de chlorhydrate et bromhydrate d'hématine, il sera préférable de recourir à notre procédé par l'éther chargé d'acide oxalique.

CHAPITRE III.

PROPRIÉTÉS GÉNÉRALES DE L'HÉMATINE.

Examinons maintenant les propriétés de l'hématine obtenue par ces modes de préparation, hématine qui représente le produit véritable et inaltéré du dédoublement de l'hémoglobine. Nous disons produit véritable et inaltéré, car nous allons le voir ; il va nous donner des cristallisations parfaitement définies sous le microscope, sans que l'on puisse constater la présence d'aucune matière étrangère.

Sous forme de poudre amorphe bleu noirâtre, lorsqu'elle est sèche, l'hématine est inodore, insipide. Elle est insoluble dans l'eau, dans l'éther, dans l'alcool, dans le chloroforme, dans le sulfure de carbone. Quelques auteurs ont émis l'opinion erronée qu'elle était soluble dans l'éther et dans l'alcool. Ils ont obtenu évidemment un dérivé de l'hématine, sous l'influence des agents chimiques employés à son extraction, dérivé qu'ils ont pris pour un produit pur.

Action des acides. — L'eau acidifiée ne la dissout pas, contrairement également à ce qu'ont dit certains auteurs expérimentant sur un produit d'altération.

Récemment précipitée, elle se dissout très-rapidement dans l'alcool et l'éther acidifiés, avec une teinte rouge brune spéciale. Si l'hématine est restée sèche quelque temps à l'air libre et plus forte raison, si elle a été chauffée quelques instants de 100 à 120°, elle résiste davantage à l'action de ces véhicules, elle peut même

résister complètement. Plusieurs fois j'ai tenté de dissoudre de l'hématine ainsi séchée dans l'alcool fortement acide, m'aidant de l'ébullition, sans parvenir à une solution complète.

L'hématine subit, à n'en pas douter, sous l'influence de la chaleur, une modification dans son état moléculaire.

Nous rapprocherons ce fait d'un phénomène analogue qui se passe pour l'oxyde de fer. Récemment précipité, à l'état gélatineux, le peroxyde de fer se combine avec l'acide arsénieux, les acides acétique, citrique, tartrique. La combinaison est même rapide. Qu'on fasse sécher ce peroxyde, ou qu'on le lave à l'eau chaude ou même qu'on le laisse quelque temps sous l'eau à une température supérieure à 10°, on aura bientôt un corps qui semble dénué de tout caractère de basicité vis-à-vis des acides précités.

C'est cet état de condensation moléculaire que nous retrouvons encore dans le chlorure de calcium fondu. Ce sel exige, malgré sa grande solubilité et sa grande affinité pour l'eau, une ébullition de quelque temps dans le liquide pour se dissoudre. Nous en dirons autant du sulfate de peroxyde de fer desséché.

L'eau fortement acidifiée l'altère plus ou moins, suivant la nature des acides, suivant le degré de température. L'ébullition de l'hématine, avec de l'eau acidifiée par l'acide sulfurique ou par l'acide chlorhydrique, amène une décomposition plus ou moins complète du produit. Cette décomposition se traduit par une soustraction du fer, qu'il est facile de reconnaître dans le liquide à l'aide des réactifs ordinaires.

A froid, l'acide nitrique concentré dissout l'hématine.

Une addition d'eau dans ce liquide très-acide n'amène pas de précipité. L'hématine a subi un commencement d'altération. Si maintenant l'on soumet à l'ébullition la solution d'hématine dans l'acide nitrique concentré, on voit la teinte rouge brun des solutions ordinaires, acides d'hématine, passer à une teinte jaune claire, avec dégagement de vapeurs rutilantes. Par refroidissement de la liqueur le liquide conserve une teinte verdâtre. L'éther agité avec ce liquide s'empare de la matière colorante. Examinée au spectroscope, cette solution étherée ne donne pas de bandes d'absorption. Il n'y a pas lieu de soupçonner la biliverdine avec laquelle on pourrait la confondre, à un examen superficiel.

Ajoutons que l'ammoniaque fait passer la solution nitrique du jaune verdâtre au rouge orangé.

Par l'évaporation des liqueurs, nous n'avons pas réussi à obtenir une matière colorante cristallisée et définie.

Ces jeux de couleur que nous signalons peuvent, à l'heure actuelle, offrir une minime importance au point de vue des conclusions. L'hématine subit là une oxydation à n'en pas douter, que nous n'avons pas eu le loisir d'approfondir. Comme dans bien d'autres réactions que nous signalerons à propos de l'hématine, nous sommes en présence de toute une voie de recherches encore inconnue. L'influence spéciale des principaux agents chimiques n'a pas encore été abordée d'une façon rigoureuse.

Ce sont là autant de chapitres encore à élaborer de l'histoire chimique de l'hématine, qui ne seront écrits

que petit à petit, après maintes expériences délicates.

Nous en dirons autant de l'action de l'acide sulfurique concentré, étudiée par Mulder, par Hoppe-Seyler. Elle mérite d'être abordée de nouveau, afin de s'assurer si l'hématine modifiée par cet acide énergique, correspond à quelque homologue d'un pigment normal de l'économie.

Ici, comme ailleurs, il faut disposer absolument d'une proportion plus forte d'hématine qui se prête à une investigation suivie. Mulder a remarqué que si l'on traite l'hématine par l'acide sulfurique concentré, elle s'y dissout. L'eau précipite de cette solution un corps noir exempt de fer. Le liquide séparé par filtration donne les réactions de sulfate de protoxyde de fer.

Ce dérivé de l'hématine est amorphe, bleu noirâtre, avec des reflets métalliques ; il est insoluble dans l'eau acidifiée ; il est soluble dans les alcalis étendus.

Les acides organiques ont une action décomposante sur l'hématine moins active que les acides minéraux. L'acide acétique particulièrement nous paraît innocent. Les acides citrique, tartrique, à l'aide de quelques minutes d'ébullition en solution moyennement concentrée enlèvent le fer de l'hématine. C'est ainsi que MM. Paquelin et Joly ont obtenu leur hématine exempte de fer, qu'ils ont la complaisance d'envisager comme le pigment dérivé immédiatement de l'hémoglobine.

L'alcool et l'éther fortement acidifiés par les acides minéraux, altèrent beaucoup moins l'hématine que l'eau acidifiée dans les mêmes conditions. Les acides organiques en dissolution dans l'alcool ou l'éther ne modifient pas du tout l'hématine.

On pourrait dire que la température relativement basse à laquelle bout tout l'alcool est la cause de cette non-altération. Toutefois nous avons chauffé en tube scellé pendant trois heures à 110° une solution d'hématine dans l'alcool saturé d'acide oxalique. Elle n'a subi aucune modification. Le spectroscope donne toujours la raie caractéristique de la solution acide d'hématine. Nous verrons qu'il en est autrement avec l'alcool chargé d'acide chlorhydrique.

Cette expérience seule pourrait nous amener à conclure que l'éther froid, faiblement acide, n'a aucune action décomposante sur l'hématine, et que notre mode de traitement est le plus innocent que nous puissions employer pour sa préparation. Nous allons voir notre opinion s'étayer de nouveaux faits importants, lorsque nous traiterons de la fonction basique et que nous préparerons, pour ainsi dire extemporanément, des combinaisons définies de cette substance avec certains acides.

Nous reprendrons plus loin cette question des acides vis-à-vis de l'hématine, lorsque nous apprécierons la nature basique de cette substance. En traitant du sang au point de vue médico-légal, nous rappellerons les caractères spectroscopiques des solutions acides d'hématine.

Action des alcalis. — Comment l'hématine se comporte-t-elle avec les alcalis ? L'hématine pure, traitée par de l'eau alcalinisée à l'aide de la potasse, de la soude, de l'ammoniaque, se dissout avec une teinte dicroïque spéciale, verte par réflexion, rouge par réfraction. Certains oxydes métalliques, récemment précipités, l'oxyde de plomb, l'oxyde de zinc, l'oxyde

d'aluminium, se combinent avec l'hématine en formant des laques d'un beau vert. L'hématine ne subit aucune altération. Il suffit de traiter ces laques par de l'éther acide, pour régénérer aussitôt la solution acide rouge brun primitive. La potasse et la soude en solution concentrée altèrent profondément l'hématine. L'ammoniaque contracte avec elle une combinaison destructible à la température de 130 degrés. Nous avons remarqué cette combinaison ammoniacale est assez stable pour que les acides étendus n'aient aucune action décomposante sur elle. Que l'on dissolve en effet de l'hématine dans l'eau, à la faveur de l'ammoniaque, que l'on ajoute goutte à goutte de l'acide acétique, ou de l'acide oxalique, de manière que l'eau soit faiblement acide, on obtient un précipité floconneux, et la liqueur est décolorée. Ces flocons sont une combinaison d'hématine et d'ammoniaque. Recueillis et repris par l'éther, ils donnent une solution ambrée et même rougeâtre, si elle est concentrée. Il faudra chauffer cette hématine à 130 degrés pour chasser l'ammoniaque et la retrouver pure avec ses caractères d'insolubilité dans l'éther et l'alcool.

Nous avons cherché à obtenir un produit bien défini de cette combinaison alcaline de l'hématine, en soumettant à l'évaporation spontanée une solution alcoolique faiblement ammoniacale. Nous n'avons jamais pu obtenir de cristaux. Il s'est toujours déposé, avant l'évaporation complète de la liqueur, des granulations amorphes, solubles dans l'alcool et dans l'éther.

N'omettons pas de dire que les alcalis concentrés ou leur action prolongée, lorsqu'ils sont étendus, s'opposent à la formation des cristaux d'hémine. L'hématine

subit donc une altération manifeste. Nous verrons plus loin que du sang soumis à une putréfaction prolongée perd toute propriété de donner des cristaux de chlorhydrate. Blondlot a déjà d'ailleurs signalé ce fait. Les solutions alcalines d'hématine ont aussi des caractères spectroscopiques importants, sur lesquels nous nous arrêterons en traitant de l'hématine en chimie légale.

Action de l'albumine. — Je ne sais si l'on peut admettre que l'hématine forme une combinaison spéciale avec l'albumine autre que l'hémoglobine. Toujours est-il qu'une solution d'albumine dans l'eau tient l'hématine en dissolution, même en présence des acides. Du sang coagulé par l'éther à 56 degrés est traité à chaud par l'alcool, fortement acidifié par l'acide tartrique. Nous filtrons et additionnons l'alcool de deux fois son volume d'eau. Le liquide présente une teinte opaline et rien ne se précipite. L'alcool, fortement acide, a entraîné de la matière albumineuse que l'eau ne précipite pas, et qui retient le pigment en solution. Traite-t-on, au contraire, le coagulum sanguin par l'alcool faiblement acide, on a une teinture, au sein de laquelle l'addition d'eau précipitera invariablement l'hématine. L'alcool, faiblement acide, n'a pas entraîné de la matière albuminoïde ; l'addition d'eau précipite l'hématine qui est insoluble, nous l'avons vu, dans l'eau acide. Nous nous demandons si les auteurs qui ont avancé la solubilité de l'hématine dans l'eau acide n'ont pas opéré en présence d'une trace d'albumine.

Action de l'eau oxygénée. — L'eau oxygénée a une action bien réelle sur le pigment des cheveux. On sait

que certaines femmes brunes, jalouses de la couleur des blés, ont recours à cet agent décolorant pour jouer la nature. Nous avons pensé que cette action oxydante s'exercerait peut-être également vis-à-vis du pigment hémattique. Quelques milligrammes d'hématine ont été mis en présence de quelques centimètres cubes d'eau oxygénée. Ils ont amené la décomposition rapide de cette dernière. Nous retrouvons là le phénomène constaté, à propos de beaucoup de substances qui décomposent l'eau oxygénée par simple action de présence.

Action de la putréfaction. — Nous avons pensé que l'hématine, sous l'influence des corps réducteurs provenant de la décomposition des matières albuminoïdes qui l'accompagnent, subirait peut-être une modification, se dépouillant, par exemple, de son fer pour donner naissance à l'hématoïdine de Robin ou à un corps analogue. 500 grammes de sang défibriné ont été laissés, pendant quatre mois de chaleur, exposés à l'air dans un flacon, couvert d'une lame de verre pour éviter les poussières et la pluie. Au bout de quatre mois de fermentation putride, à une température très-favorable à l'évolution du phénomène, nous avons examiné le sang au microscope. Le fond du flacon était boueux et ne présentait à un grossissement de 300 diamètres que des granulations amorphes, de matière colorante brune, au sein d'un magma albumineux sans caractère morphologique.

Dès les premiers instants de la putréfaction, l'hémoglobine a été décomposée en hématine sous l'influence du dégagement ammoniacal et du sulfhydrate d'ammo-

niaque, sans qu'il s'opère, sous l'influence de ces agents réducteurs, une modification plus avancée.

En traitant ce sang putréfié par l'alcool, nous avons entraîné une notable partie de la matière colorante, se dissolvant à la faveur de l'ammoniaque et des ammoniacs composées qui ont pu se former pendant la fermentation putride. Cette solution, d'une belle coloration rouge de sang, donne au spectroscope la bande d'absorption des solutions alcalines d'hématine. Il s'est formé, en même temps, un faible coagulum albumineux, entraînant de l'hématine. A l'aide de la solution éthérée d'acide oxalique, nous avons pu extraire cette hématine par notre procédé et constater qu'elle était presque inaltérée. Elle contenait du fer dans sa molécule, mais ne donnait pas des cristaux de chlorhydrate avec les modes d'opérer que nous avons indiqués. L'action des alcalis, vis-à-vis de l'hématine, s'est exercée trop longtemps.

Action de la chaleur. — L'hématine supporte une température de 180 degrés, sans se décomposer. Au delà de cette température, elle émet des fumées, se carbonise sans se boursoufler. Après combustion de toute la partie organique, il reste, comme résidu, de l'oxyde de fer d'un beau rouge, dans la proportion de 12,55 0/0. Gorup-Besanez donne le chiffre de 12,60. D'autres auteurs donnent 12,80. Nos essais ont abouti à une moyenne de 12,55 environ.

Nous avons déjà signalé plus haut l'action de la température vis-à-vis de la cohésion de l'hématine, tendant à modifier sa solubilité dans les agents acides qui

sont ses dissolvants ordinaires. L'hématine chauffée à 130 degrés se différencie considérablement, à ce point de vue, de l'hématine récemment précipitée. Nous reviendrons encore, à propos du chlorhydrate et du bromhydrate d'hématine, sur ce caractère.

Notre ami, le docteur Danlos, a expérimenté l'action lente de la chaleur vis-à-vis de l'hématine, afin d'arriver à transformer cette dernière en hématoïdine. Pour cela, il lui a ménagé le milieu albumineux au sein duquel s'opère, dans l'organisme, cette curieuse métamorphose. Prenant du sang défibriné, il l'a enfermé dans une large éprouvette et recouvert d'une couche d'huile d'olive, afin d'éloigner le contact de l'air. Au bout de trois semaines d'exposition à une température voisine de celle de l'économie animale, le liquide sanguin a été soumis à l'examen microscopique. Aucune cristallisation n'avait apparu. Le sang n'était pas putréfié, grâce à une trace d'acide cyanhydrique ajoutée au commencement de l'expérience.

Les conditions dans lesquelles l'hématine passe à l'état d'hématoïdine dans les anciens foyers hémorrhagiques nous échappent encore.

Action de l'électricité. — L'électricité décompose l'hématine, sans que nous ayons pu obtenir jusqu'à présent aucun produit de dédoublement défini. Nous avons opéré sur des solutions acides d'hématine dans l'alcool, que nous avons soumises à l'influence d'un courant de faible tension, obtenu à l'aide d'une pile thermo-électrique (Clamond). Au bout de quelques minutes d'action, le liquide, de rouge brun, passait au jaune clair. Evaporant le liquide au bain-marie, nous consta-

tions un résidu jaunâtre, constitué par un persel de fer et une matière colorante jaunâtre. Nous avons pu enlever par le sulfure de carbone cette matière que nous n'avons pu obtenir cristallisée.

Composition de l'hématine. — L'hématine est un composé quinternaire contenant du carbone, de l'hydrogène, de l'azote, de l'oxygène et du fer. Lecanu a constaté le caractère ferrugineux de ce pigment, que M. Chevreul avait cru exempt de fer, en cherchant à l'isoler par une mauvaise méthode. L'hématine non ferrugineuse est un produit de dédoublement, qui méritera une étude spéciale.

Nous n'avons pas voulu approfondir la formule de l'hématine, qui ne pourra être établie qu'avec l'étude des produits de transformation. Notre but a été de nous rendre compte si l'hématine, préparée par notre procédé, correspond à celle d'Hoppe-Seyler.

Nous avons pratiqué un dosage d'azote et deux dosages de fer.

Opérant sur 0 gr., 3112 de matière séchée à 100 degrés, nous avons trouvé 9 gr., 04 d'azote 0/0.

La formule $C^{48} H^{51} Fe^3 Az^6 O^9$ ($Fe = 28$) exige 8 gr., 94 0/0.

Un dosage de fer a été effectué sur 0 gr., 175 de matière séchée à 100 degrés. Nous avons obtenu 12 gr., 51 0/0 de peroxyde de fer. Un second dosage effectué avec 0 gr., 216 de matière, prise dans les mêmes conditions, nous a donné 12 gr., 564 0/0. Gerup-Besanez avait trouvé 12 gr., 60 0/0.

Nous n'hésitons pas à conclure que notre produit est identique avec l'hématine des chimistes allemands.

CHAPITRE IV.

SELS DÉFINIS D'HÉMATINE.

§ 1. *Chlorhydrate d'hématine.*

Teichmann en chauffant de sang avec l'acide acétique reconnu, à l'aide du microscope, qu'il se faisait des cristaux de matière colorante. Il prit ces cristaux pour de l'hématine cristallisée, et les désigna sous le nom d'hémine pour les distinguer de l'hématine amorphe ordinaire. (1)

Rollett, dans un travail trop peu connu en France, donna une méthode générale pour obtenir des cristaux de matière colorante du sang. Il procède d'abord comme Wittich dans la préparation de son hématine. Il prend du sang défibriné, y verse une solution concentrée de potasse, jette sur un filtre le coagulum formé, et sèche à une température qui ne dépasse pas 40°. Le coagulum, repris par l'alcool absolu, donne une teinte très-chargée à la faveur de l'alcali. Une solution alcoolique d'acide tartrique versée dans la teinture alcaline détermine d'abord la transformation d'un précipité, puis redissout la matière colorante. On filtre, on évapore au dixième la solution acide, on laisse refroidir et l'on obtient ainsi de grandes quantités de cristaux très-nets. Mis à égoutter

(1) Teichmann, Zeitschrift für rationelle medicin, neue solge. Bd. III, p. 375, und Bd. V, p. 43.

sur un filtre et lavés à l'eau distillée, il sont complètement purs. (1)

Avec les acides oxalique, citrique, lactique, Rollett obtient des cristaux analogues, cristallisant sous des formes correspondant à deux systèmes. Les uns dérivent du système rhombique et se présentent sous forme de tables ou d'aiguilles; les autres sont des prismes à six faces.

L'auteur allemand examine les caractères de solubilité de ces cristaux, qu'il n'analyse point, et qu'il confond avec l'hématine amorphe de Lecanu (globuline), sans songer à la possibilité d'une combinaison de l'hématine avec un acide.

Ajoutons que Lehmann, avant Rollett, en traitant du sang par un mélange d'alcool et d'éther tenant en dissolution de l'acide oxalique, et abandonnant la solution au repos, avait obtenu également des cristaux.

Toutefois la composition de ces cristaux avait été méconnue jusqu'à Hoppe-Seyler qui en reprit l'étude, en prépara des quantités suffisantes et les soumit à l'analyse. Il leur assigna la composition $C^{96} H^{102} Az^{12} Fe^3 O^{18}$, $2 HCl$, reconnaissant la présence de l'acide chlorhydrique dans la molécule. Gorup-Besanez a confirmé les assertions d'Hoppe-Seyler. Les acides organiques, mis en présence du sang, n'agiraient qu'en décomposant les chlorures en présence de l'hématine, mettant l'acide chlorhydrique en liberté, qui a une grande affinité pour le pigment sanguin.

(1) Rollett, Kurze Mittheilung einiger Resultate über die Farbestoffkrystalle welche sich unter dem Einflusse von Säuren aus dem Blute abscheiden (Vorgeley, in der Sitzung vorn, 23 Juli 1863).

Partant donc de ce fait que l'hématine peut former avec l'acide chlorhydrique une combinaison définie, d'après les assertions de Hoppe-Seyler, nous avons cherché à former cette combinaison directement. Teichmann, Lehmann, Rollett ne l'ont produite en effet que par l'intermédiaire des chlorures. Après de longs tâtonnements, nous avons réalisé la combinaison de la façon suivante : Nous introduisons au fond d'un tube fermé par un bout, de l'hématine pure récemment précipitée, encore gélaniteuse, sous cet état privé de cohésion qui se prête à l'influence dissolvante de l'éther faiblement acide. On verse sur cette hématine, 4 centimètres cubes d'éther pur, exempt d'eau, très-légèrement acidifié par l'acide chlorhydrique. Disons que nous entendons par éther acidulé, de l'éther pur additionné d'une demi-goutte d'éther saturé de gaz acide chlorhydrique. Cet éther saturé s'obtient en faisant passer un courant de gaz acide chlorhydrique sec dans de l'éther anhydre, refroidi par un mélange réfrigérant.

Par agitation avec l'hématine, cet éther acidulé prend une teinte faible rouge brun, quelquefois une teinte un peu plus foncée. Par un repos de quelques heures, la coloration a visiblement diminué d'intensité. Si nous examinons alors au microscope l'hématine primitivement pulvérulente et amorphe, nous trouvons des cristaux très-nets, de coloration marron, se présentant tantôt sous forme de fers de lance allongés, groupés en étoiles, tantôt sous formes de prismes tronqués aux extrémités. A côté de ces cristaux, on voit en général quelques grains d'hématine amorphe, échappés encore à l'action de l'acide chlorhydrique. Il suffit de répéter l'acidulation de l'éther avec beaucoup de précautions,

pour ne trouver bientôt sous le microscope que des cristaux.

L'hématine est alors complètement combinée.

L'examen microscopique doit se faire avec un grossissement de 300 diam. environ.

Ces cristaux parfaitement lavés ont été analysés. Ils renferment de l'acide chlorhydrique et peuvent être envisagés comme une combinaison d'hématine avec cet acide. On les traite par de l'eau bouillante sans leur enlever trace d'acide. Dissous alors dans de l'ammoniaque pure, ils abandonnent à cette base l'acide chlorhydrique. Précipitant en effet l'hématine par l'acide acétique, on reconnaît dans le liquide filtré la présence évidente du chlorhydrate d'ammoniaque à l'aide du nitrate d'argent.

Ces cristaux sont très-friables, et doivent être soumis à l'examen microscopique en évitant de les comprimer entre les lames, sans cela, on n'a plus qu'une masse marron granuleuse, dans laquelle on retrouve à peine quelques débris de forme cristalline.

L'eau, l'alcool, l'éther, ne les dissolvent pas.

L'alcool et l'éther très-acides les dissolvent, encore, faut-il que ces véhicules soient rendus acides par des acides forts. L'alcool très-chargé d'acide chlorhydrique le dissout, puis abandonne par l'évaporation lente des globules noirâtres, résinoïdes.

L'éther m'a donné dans ces conditions des cristaux cubiques, noirs, opaques, que j'ai montrés à M. Gautier, agrégé de la Faculté, mais sur la nature desquels je n'ose me prononcer. Toujours est-il qu'ils contiennent de l'acide chlorhydrique dans leur molécule.

Ces produits de l'évaporation, au sein d'une liqueur

acide, m'ont paru se rapprocher de l'hématine de Robin et Verdeil, que ces savants obtiennent en évaporant sur l'eau la solution alcoolique d'hématine dans l'acide chlorhydrique. Ils ont en effet des propriétés identiques, sont solubles dans l'alcool et l'éther, après lavages à l'eau pour enlever toute trace d'acide.

L'hématine de Robin, comme nos analyses nous l'ont indiqué, contient de l'acide chlorhydrique dans sa molécule. C'est à une combinaison acide d'un dérivé de l'hématine. Nous disons dérivé, car la solution alcoolique ou étherée de cette substance ne présente plus la teinte rouge brun ordinaire des solutions acides d'hématine, mais bien une teinte jaune brun. Au spectroscope on n'obtient plus les bandes caractéristiques des solutions acides d'hématine pure.

Les solutions étendues et froides de carbonate de soude attaquent lentement ces cristaux de chlorhydrate d'hématine. Les alcalis concentrés les dissolvent, ainsi que les solutions alcooliques d'alcalis.

Nous trouvons, en un mot, les propriétés de l'hémine de Teichmann.

Les auteurs qui nous ont précédé n'ont pu préparer la chlorhydrate d'hématine que par l'intermédiaire des chlorures, comme nous l'avons dit en commençant. Hoppe-Seyler qui a donné un procédé régulier de préparation des cristaux de chlorhydrate, étend du sang défibriné de son volume d'eau et le traite par l'acétate de plomb, en évitant d'en employer un excès. L'albumine combinée à l'oxyde de plomb se précipite. La liqueur filtre colorée en rouge; on la débarrasse de l'excès de plomb par le carbonate de soude, on filtre de nouveau et on évapore dans le vide. Le résidu est broyé avec 15

et 20 fois son poids d'acide acétique cristallisable, avec addition d'une petite quantité de chlorure de sodium. Le mélange brun est abandonné à lui-même pendant quelques heures, puis chauffé pendant deux heures au bain-marie. On ajoute au liquide cinq fois son volume d'eau pure, et le tout est abandonné à la température ordinaire pendant une semaine. Il se sépare des cristaux d'hémine qu'on recueille et qu'on dissout dans l'acide acétique bouillant. Une addition d'eau amène de nouveau la séparation des cristaux qu'on recueille et qu'on lave à l'eau.

Cette hémine présente des propriétés générales identiques à celles que nous avons signalées plus haut. Toutefois, la forme cristalline diffère un peu. Ensuite, les cristaux que nous obtenons directement avec l'éther acide sont minces, friables, marron. Par le procédé d'Hoppe Seyler ils sont durs, d'un marron bien plus foncé.

Notre méthode directe est, dans tous les cas, une confirmation éclatante des affinités de l'hématine mises en évidence par Hoppe Seyler. Mais cette méthode, telle que nous l'avons exposée, entraîne irrévocablement de nombreux tâtonnements pour la quantité d'acide à mettre vis-à-vis de l'hématine, en vue d'une combinaison complète. Préciser d'un autre côté le degré d'acidité nécessaire pour un poids d'hématine humide rapporté à un poids donné d'hématine sèche, est une tâche difficile. L'éther chargé d'acide chlorhydrique est peu maniable, et l'hématine, que l'on obtient toujours en petite quantité ne se prête pas à une méthode pondérale de cette nature.

Nous avons trouvé un mode de séparation, qui juste-

ment n'exige aucune précaution dans les manipulations, et doit donner des résultats constants, entre des mains même inhabiles :

Préparation du chlorhydrate d'hématine. — On prend du sang que l'on traite exactement comme pour la préparation de l'hématine, c'est-à-dire qu'on le coagule par l'éther à 56 degrés, après lavages des globules, si l'on veut, par le chlorure de sodium ; on fait la teinture d'hématine à l'aide de l'éther tenant en dissolution 2 pour 100 d'acide oxalique. Soit 50cc de cette teinture concentrée, on l'additionne de cinq gouttes d'éther saturé de gaz acide chlorhydrique ; on agite pour mélanger, puis l'on verse cette teinture dans un matras contenant 200cc d'eau distillée. On a soin de ne pas remuer. La teinture acide surnage et abandonne par le repos, sur la zone de séparation des liquides, une matière pulvérulente, noirâtre, que le microscope permet de reconnaître parfaitement cristallisée. Ces cristaux sont du chlorhydrate d'hématine doué de toutes les propriétés signalées plus haut.

Il faut avoir soin de laisser le matras débouché, afin que l'éther s'évapore lentement. Avec quelques précautions on peut obtenir ainsi, au bout de vingt-quatre heures, des cristaux visibles à de très-faibles grossissements. (Voir planche I, fig. 2.)

Si l'on agitait directement avec de l'eau la solution éthérée, on obtiendrait aussi des cristaux de chlorhydrate, mais beaucoup plus petits. L'eau s'emparant brusquement dans ces conditions d'une grande partie de l'acide et de l'éther, le sel se précipite, insoluble dans l'éther doué dès lors d'une faible acidité.

On pourrait également, mais en petite quantité, et d'une façon plus irrégulière, préparer les cristaux de chlorhydrate en traitant par l'éther chargé d'acide chlorhydrique le sang coagulé par l'éther-alcool. Il faut que cet éther ne soit pas trop riche en acide chlorhydrique sous peine de voir se gonfler l'albumine qui retient énergiquement la matière colorante. Un volume d'éther saturé pour 10 volumes d'éther à 56° suffit parfaitement. Un peu d'alcool dans l'éther est très-favorable à l'extraction de l'hématine. Il suffit de laisser reposer vingt-quatre heures dans un ballon cette solution chlorhydrique pour voir les parois du récipient tapissées de cristaux. Je les ai obtenus deux ou trois fois assez volumineux pour les apercevoir à la loupe et même à la rigueur à l'œil nu.

Cette solution agitée avec de l'eau donne aussi des cristaux de sel d'hématine. Mais il est une condition indispensable à la réussite de l'opération : l'absence dans la solution étherée d'hématine de matière albuminoïde ou de matières grasses. Sans cela le chlorhydrate précipité est amorphe. Et disons en passant que cet amorphisme se retrouve toutes les fois que la formation de chlorhydrate a lieu en présence de substances étrangères.

La présence d'une certaine quantité d'alcool dans l'éther est très-utile à la formation des cristaux.

Nous ne pouvons omettre en passant de signaler un procédé de préparation de l'hématine inédit, dû à M. Glénard de Lyon, et basé précisément sur l'emploi de l'éther chargé d'acide chlorhydrique. Le sang est coagulé par l'alcool, puis traité dans un mortier par l'éther-acide. On agite ensuite cet éther-acide avec de

l'eau ammoniacale qui lui enlève sa matière colorante. Avec l'acide acétique ou tout autre acide, on précipite au sein de l'eau la matière colorante de sa solution alcaline. Il faut avoir soin de ne pas employer un éther trop acide, sous peine d'entraîner ces principes albumineux. L'eau ammoniacale devra être modérément alcaline, sinon l'éther par l'agitation dissoudrait du gaz ammoniac et retiendrait de la matière colorante.

Ce procédé auquel M. Glénard n'a pas donné suite, que je sache, offre l'inconvénient d'épuiser difficilement le coagulum sanguin, et d'enlever quelquefois un peu de matière albuminoïde si l'éther est tant soit peu alcoolique.

Toutefois, nous devons l'avouer, ce procédé très-ingénieux que nous connaissions avant d'imaginer notre méthode de préparation de l'hématine, n'a pas été sans influence sur notre innovation. Il a été pour nous une première base de recherches.

Dans le procédé de préparation du chlorhydrate d'hématine, tel que nous l'avons indiqué, en laissant évaporer sur l'eau la solution étherée acide d'hématine, il faut prendre la précaution de bien laver le coagulum sanguin avec de l'éther avant le traitement acide. Comme dernière disposition pratique, nous prescrivons de ne pas laisser complètement évaporer l'éther. La zone de séparation de l'eau et de l'éther qui la surnage offre déjà des cristaux avant l'évaporation complète. Sinon il suffira d'une trace de matière grasse pour donner au microscope une bouillie méconnaissable.

Dès que l'on verra la couche à chlorhydrate formée, on recueille les cristaux que l'on dépose délicatement

sur la lame de verre, et cela avec un tube creux de petit calibre, que l'on utilise comme pipette, en fermant l'orifice supérieur avec l'index. La lamelle une fois superposée avec précaution, on regarde au microscope et l'on constate les formes caractéristiques.

Nous ne pouvons terminer ces considérations sur le chlorhydrate d'hématine, sans ajouter encore un procédé rapide de préparation, que nous avons expérimenté avec soin. Il consiste à traiter de l'hématine pure, séchée à la température ordinaire, par de l'alcool additionné de quelques gouttes d'acide chlorhydrique pur. On chauffe; l'alcool est bientôt coloré en rouge brun par l'hématine acide. On décante ou l'on filtre la teinture pour laisser l'hématine indissoute. Par refroidissement il se dépose des cristaux de chlorhydrate d'hématine, bien moins friables que ceux obtenus par l'éther, d'un noir foncé, et sous forme de petits fers de lance groupés en étoiles. Nous leur reconnaissons toutes les propriétés de l'hémine ordinaire. (Voir planche II, fig. 2.)

Si nous chauffons à 200° ces cristaux au sein de la teinture-mère, nous remarquons qu'ils se dissolvent; chauffant pendant quelque temps, si nous laissons ensuite refroidir nous remarquons qu'aucune cristallisation ne réapparaît. Le liquide a pris une teinte qui tend vers le jaune brun, au lieu du rouge brun primitif. Au spectroscope, cette solution ne présente plus la bande caractéristique de l'hématine acide. Evidemment l'hématine a déjà subi une modification profonde.

C'est là un chapitre d'études à ajouter à tant d'autres, lorsque nous voudrons quitter le champ des généralités que nous nous sommes astreint à parcourir dans ce travail.

§ II. *Bromhydrate d'hématine*. — Grâce à certains tours de main, nous avons vu comment nous avons formé directement le chlorhydrate d'hématine. Il était logique de penser que les acides qui se rapprochent de l'acide chlorhydrique par leurs affinités, donneraient aussi des combinaisons définies avec le pigment sanguin. L'expérience a confirmé nos présomptions. De l'hématine *récemment précipitée*, mise dans un tube fermé par un bout et traitée par l'éther acidulé à l'aide de l'acide bromhydrique, donne très-rapidement des cristaux de bromhydrate (1). Ils offrent également les mêmes propriétés : insolubles dans l'eau, l'alcool et l'éther, ils se dissolvent dans l'alcool et l'éther très-acides, dans les liquides alcalins. (Voir planche I, fig. 4).'

A propos du bromhydrate, nous ferons les mêmes réflexions que nous faisons en traitant du procédé de préparation du chlorhydrate. Il faut une méthode exempte d'incertitude et de tâtonnements.

Additionner la teinture oxalique d'hématine de quelques gouttes d'éther chargé d'acide bromhydrique, comme nous avons fait avec l'éther chargé d'acide chlorhydrique, est une façon d'opérer appelée peut-être à être entachée d'erreur. La solution oxalique d'hématine contient toujours, par suite de sa préparation avec le sang, une certaine quantité de chlorure de sodium. Spontanément, comme Lehmann l'a observé, il peut se

1) L'éther s'acidifie avec une demi-goutte d'éther, saturé de gaz acide bromhydrique. L'éther saturé s'obtient en faisant réagir le brome sur le phosphore amorphe humide, et recevant le gaz formé dans de l'éther pur et anhydre, au sein d'un mélange réfrigérant.

former des cristaux de chlorhydrate par la simple réaction de l'acide oxalique sur les chlorures en présence de l'hématine. Qui nous a dit, lorsque nous exposons sur l'eau (1) la teinture oxalique d'hématine, additionnée de quelques gouttes d'éther acide par le gaz bromhydrique, qu'il ne se formera pas simultanément des cristaux de chlorhydrate, grâce à la réaction signalée plus haut? Pour parer à cet inconvénient nous avons donc dû chercher une méthode différente de préparation.

Préparation du bromhydrate d'hématine. — On prépare d'abord, par notre procédé, de l'hématine pure. Récemment précipitée, encore humide sur le filtre, elle est traitée par de l'éther acide par le gaz bromhydrique. Le dissolvant, formé par un mélange de 1cc d'éther saturé et 3cc d'éther pur anhydre suffit dans cette opération. La dissolution est très-rapide. La teinture rouge brun est filtrée, en cas qu'une partie de l'hématine ait échappé à la dissolution ayant subi partiellement la modification moléculaire sur laquelle nous nous sommes arrêté précédemment. 50cc de cette teinture sont versés à la surface de 200cc d'eau distillée contenue dans un matras, et abandonnés ainsi à une évaporation lente. Les cristaux de bromhydrate ne tardent pas à apparaître au niveau de la zone de deux liquides. Ils sont appréciables parfois à de faibles grossissements.

Nous avons pu obtenir également à l'aide de l'alcool chargé d'acide bromhydrique des cristaux de bromhydrate, mais dans un système tout différent. Avec l'éther chargé d'acide bromhydrique on obtient de petites lames

prismatiques tronquées à leurs extrémités. Ces lames sont d'une friabilité considérable. Avec l'alcool acide on obtient un bromhydrate, sous forme de petits cubes à arêtes souvent émoussées, de manière à simuler des formes losangiques ou complètement rondes. Ces cristaux sont durs, d'un brun foncé, souvent réunis ensemble et présentant un aspect moniliforme. (Voir planche II, fig. 3).

Quant aux propriétés générales du bromhydrate, elles se rapprochent considérablement de celle du schlorhydrate. Traité par l'ammoniaque et d'une façon générale par les alcalis, le bromhydrate abandonne son brome à la base plus forte en même temps que l'hématine reste en solution. Après précipitation de l'hématine par l'acide acétique, on pourrait constater dans le liquide la présence du bromhydrate d'ammoniaque avec les réactifs ordinaires.

§ III. *Iodhydrate d'hématine.*

L'acide iodhydrique, qui se rapproche par ses affinités des acides chlorhydrique et bromhydrique, a été mis en présence de l'hématine dans les conditions où nous avons expérimenté pour ses analogues. Nous avons réussi à obtenir de l'iodhydrate d'hématine cristallisée sous formes de prismes brunâtres tronquées à leurs extrémités. Seulement la décomposition facile de l'acide iodhydrique nous a arrêté un instant dans la formation du composé. Il est d'abord impossible de conserver une dissolution d'acide iodhydrique dans l'éther ; la solution est rapidement colorée en brun par l'iode mis en liberté. Si ensuite on fait réagir sur de l'hématine une solution acide faible d'éther produite extemporanément

avec l'acide iodhydrique gazeux, comme en même temps que l'hématine est attaquée, l'acide iodhydrique tend d'un autre côté à se décomposer spontanément dans la liqueur, on se trouvera en présence de résultats irréguliers. Le procédé suivant nous a toutefois donné un bon résultat. Nous mettons de l'hématine pure *récemment précipitée* en suspension dans l'éther à 56°. Nous faisons arriver un courant d'acide iodhydrique jusqu'à dissolution. Agitant ensuite cette teinture avec de l'eau distillée, nous obtenons de l'iodhydrate d'hématine cristallisée. (Voir planche II, figure 4). M. Husson s'inspirant très-probablement des faits que nous venons d'exposer et qui ont été publiés sommairement dans le journal de M. Ch. Robin (1) serait arrivé, dit-il, à préparer les bromhydrate et iodhydrate d'hématine en procédant comme Teichmann pour le chlorhydrate. Il traite le sang par l'acide acétique, en présence d'un bromure ou d'un iodure ; les cristaux de sels d'hématine apparaissent rapidement sous le microscope. Nous discuterons à propos des recherches médico-légales la valeur du procédé de M. Husson.

Nous verrons que ses vues sur les sels d'hématine sont complètement erronées.

CHAPITRE V.

L'HÉMATINE NE DONNE PAS DE COMBINAISON DÉFINIE AVEC TOUS LES ACIDES.

Poussant l'analogie jusqu'à ses dernières limites, nous aurions pu essayer l'action de l'acide fluorhydrique

(1) *Journal de l'anatomie et de la physiologie* de Ch. Robin, n° mai 1875.

sur l'hématine. Nous avons reculé devant l'emploi de ce composé peu maniable qui attaque le verre si facilement. Il est à présumer qu'on obtiendrait encore un composé défini.

Nous avons expérimenté l'acide cyanhydrique en solution dans l'éther, afin de saisir une combinaison s'il était possible. Nos recherches n'ont pas abouti. L'acide cyanhydrique anhydre ne nous a rien donné de défini.

Avec l'acide sulfhydrique en solution dans l'éther, l'hématine s'est dissoute avec une teinte jaune d'or sans action spectroscopique. Il s'opère là un phénomène que nous ne pouvons apprécier à l'heure présente. Peut-être est-ce une action réductrice ?

Nous avons songé à préparer un oxalate d'hématine, un tartrate, un citrate, un lactate, etc., par ce même procédé général, consistant à laisser en contact avec de l'hématine récemment précipitée de l'éther, pur très-légèrement acidifié par l'un ou l'autre des acides précédents. Nos essais sont restés sans résultat : nous n'avons jamais pu, dans quelques conditions que nous nous soyons placé, obtenir des produits cristallisés, par suite définis. Nous concluons, jusqu'à nouvel ordre, que l'hématine ne semble pas apte à contracter des combinaisons avec n'importe quel acide, et qu'elle accuse une affinité spéciale pour l'acide chlorhydrique et ses analogues.

Comme Rollett, comme Lehmann, nous avons obtenu, soit avec l'acide oxalique, l'acide tartrique et autres acides, des cristaux, mais ces cristaux ne peuvent s'obtenir qu'en présence des chlorures ou de l'acide chlorhydrique libre. Toutes les fois que nous avons opéré sur de l'hématine pure à l'abri des chlorures, nous

n'avons obtenu aucun principe cristallisé, et l'analyse n'indiquait dans les produits amorphes que nous pouvions recueillir aucune combinaison.

Lehmann avait remarqué qu'une solution concentrée de chlorure de calcium, au contact de la solution éther-alcoolique d'hématine dans l'acide oxalique, activait la formation des cristaux. Nous confirmons ce fait. Notre teinture éthérée d'hématine est versée sans agitation sur une couche de chlorure de calcium, tombée en déliquescence pour avoir une solution concentrée. Vingt-quatre heures après, la teinture était sensiblement décolorée, en même temps que la zone de séparation des deux liquides laissait apercevoir une matière noirâtre, cristalline, sous le microscope. Ces cristaux donnent à l'analyse de l'acide chlorhydrique et offrent toutes les propriétés du chlorhydrate d'hématine ; ils sont excessivement friables, et doivent être examinés en évitant la plus faible compression entre les plaques de verre. L'acide oxalique décompose évidemment le chlorure de calcium en présence de l'hématine pour donner la combinaison chlorhydratée, en même temps qu'il se forme de l'oxalate de chaux.

Nous avons dit plus haut, dans notre préparation du chlorhydrate d'hématine, qu'il suffit d'ajouter de l'éther chargé d'acide chlorhydrique à la solution oxalique éthérée d'hématine pour obtenir les cristaux. Une solution oxalique seule, abandonnée à la surface de l'eau dans les mêmes conditions, donnera constamment une matière amorphe qui, parfaitement lavée, ne fournira à l'analyse aucune trace d'acide oxalique.

Nous avons expérimenté maintes fois de diverses façons l'action de l'acide oxalique sur l'hématine sans être arrivé à constater une combinaison.

Husson (1) prétend obtenir d'autres sels d'hématine que les chlorhydrate, bromhydrate et iodhydrate que nous avons signalés. En traitant, dit-il, du sang par le borat de soude et l'acide acétique cristallisable, on obtient tous les cristaux décrits dans le Traité de chimie anatomique de Robin et Verdeil, sous le nom d'hématoïdine.

« Ils appartiennent, dit-il, au type du prisme rhomboïdal oblique ; quelquefois ils se présentent sous la forme de larges tables rhomboïdales, d'autres fois, deux ou trois prismes sont adhérents ensemble par leurs grandes faces, les petites faces étant souvent couvertes de petites aiguilles. On rencontre un grand nombre de ces aiguilles isolées ou réunies en masse, en houppe et présentant les aspects les plus bizarres. On voit aussi des cristaux de forme ovoïde, elliptique, triangulaire des grains sphéroïdes.. »

Laissons parler encore ce chimiste : « La composition de ces cristaux doit varier considérablement, comme l'indiquent leurs formes et leurs couleurs.

On reconnaît facilement, dit-il, ceux qui dérivent de l'hémine, borate d'hématine. Ils sont d'un jaune brun, réguliers, quelques-uns volumineux ; ils rappellent les chlorures, bromures, etc.

A côté de ceux-ci on en voit d'autres plus clairs, jaune-paille. Quoique appartenant au même type, ils sont déformés par troncature et arrivent à prendre la forme ovoïde, elliptique, triangulaire.

Près d'eux se trouvent des aiguilles incolores et transparentes lorsqu'on les observe sur leur face la plus

(1) Union pharmaceutique, septembre 1875.

large, noires par défaut de transparence, si elles sont vues sur le côté le plus étroit.

En même temps on trouve tout autour de ces cristaux des granulations couleur rouille, qui prouvent que le fer de l'hématine est sorti de sa combinaison, lorsque ces produits sont passés du type de l'hématine à celui de l'hématoïdine. »

Avec le sulfhydrate de soude, celui d'ammoniaque, le cyanure de potassium, le cyanure jaune, le cyanure de mercure, Husson signale des formations cristallines qu'il n'hésite pas à envisager comme des combinaisons cyanhydratées.

Ce chimiste va plus loin : Il chauffe directement du sang avec de l'acide acétique cristallisable, il obtient des cristaux ; il conclut immédiatement à la formation d'une hémine acétique. Il met du sang en présence de phénate, d'oxalate, de valérianate, de tartrate, de citrate, etc., puis chauffe avec de l'acide acétique ; il obtient des cristaux. Sans hésiter, l'auteur conclut à la formation des valérianate, phénate, tartrate, citrate d'hématine.

Ces conclusions sont purement fantaisistes.

Brücke, Erdmann, Blondlot démontrent après les analyses d'Hoppe-Seyler, de Gorup-Besanez que toutes les fois que l'on chauffe, avec de l'acide acétique cristallisable, du sang en présence d'une trace de chlorure, on obtient des cristaux d'hémine. Pour notre compte et nous y reviendrons à propos des sels d'hématine en médecine légale, nous avons reconnu que l'acide acétique, directement mis en action sur une dilution très-étendue et sang, évaporé convenablement, donne des cristaux de chlorhydrate. Si l'on pense que les taches de sang sont

dépouillées de chlorure, l'addition d'une goutte d'une solution au 1000° suffit largement.

Que doit donc faire l'expérimentateur scrupuleux qui veut se soustraire à toute cause d'erreur? Il doit éloigner le chlorure de sodium, avant de procéder à toute recherche d'action des acides vis-à-vis de l'hématine. Autrement dit, il doit opérer sur de l'hématine pure.

Si donc l'on chauffe de l'hématine pure avec de l'acide acétique, en présence de toutes les bases énumérées plus haut, parfaitement *exemptes de chlorure*, on n'obtient aucune cristallisation. Bien entendu, il faut même éviter l'intervention de l'eau ordinaire, qui peut être suffisamment chlorurée pour donner du chlorhydrate d'hématine avec le concours de l'acide acétique. L'hématine est un réactif presque aussi sensible des chlorures que le nitrate d'argent.

A priori, sans avoir expérimenté nous-mêmes, nous reprocherions à M. Husson deux vices fondamentaux dans ses expériences qui nous feraient douter de la véracité de ses conclusions. Premièrement il n'a pas songé à éliminer les chlorures, et ensuite il n'a fait aucune analyse même qualitative de ces prétendus sels d'hématine.

Mais nous ne sommes pas contenté pour rejeter ces assertions et les taxer de gratuites, de nous convaincre du vice d'expérimentation. Nous avons refait les expériences avec de l'hématine pure, obtenue par notre procédé à l'éther chargé d'acide oxalique.

Nous avons pris à l'aide d'une baguette de verre une petite quantité d'hématine pure, sur le filtre où nous l'avions recueillie et lavée. Portant le produit dans un verre de montre, nous l'avons dissout dans l'acide acétique cristallisable en nous aidant de la chaleur. Nous

avons divisé en plusieurs portions cette solution acétique d'hématine, que nous avons additionnées d'une goutte d'une solution saline variée. A l'aide d'un tube effilé nous apportons une goutte d'un des mélanges sur une lame microscopique. Nous évaporons avec précaution. Nous voyons la goutte toujours bien circonscrite diminuer de volume. En même temps apparaît à sa surface une macule noirâtre qui n'est autre chose que l'hématine ou le chlorhydrate d'hématine (suivant le cas) précipité après la disparition complète de la majeure partie de l'acide acétique, et qui se rassemble, sous forme de cicatrice à la surface du liquide. Il suffit de couvrir avec la lamelle de verre et de regarder au microscope, avec un grossissement de 250 diamètres, pour apercevoir l'hématine amorphe ou les cristaux de chlorhydrate suivant les cas consignés dans le tableau suivant :

			RÉSULTAT.
1 ^{er} Essai.	Hématine pure.	Acide acétique.	Une goutte, eau distillée. Hématine amorphe.
2 ^e	—	—	Une goutte, eau ordinaire, lou-chissant avec le nitrate d'argent. Cristaux de chlorhydrate (grâce au chlorure de l'eau).
3 ^e	—	—	Une goutte, solution borax. Hématine amorphe.
4 ^e	—	—	Une goutte, sulfhydrate d'ammoniaque. Hématine amorphe.
5 ^e	—	—	Une goutte, cyanure de potassium. Hématine amorphe.
6 ^e	—	—	Une goutte, oxalate d'ammoniaque. Hématine amorphe.

Nous voyons que ces essais sont tout simplement une confirmation par une autre méthode des faits que nous

avons signalés plus haut, en faisant agir au sein de l'éther divers acides sur l'hématine récemment précipitée.

Pour pousser la critique encore plus loin, nous prétendons qu'il est matériellement impossible à la vue simple sans le microscope, de distinguer des granules d'oxyde de fer de granules d'hématine, comme le prétend Husson dans sa description du soi-disant borate d'hématine.

Et le chlorhydrate cristallise sous tant de formes différentes que, désormais, il sera indispensable de faire une analyse chimique si l'on croit avoir préparé un nouveau composé d'hématine. Le caractère cristallin n'aura qu'une valeur relative.

Toutes les expériences précédentes ont été faites avec du sang de bœuf. Répétées avec les sangs de chien, de mouton, elles ont donné les mêmes solutions.

Chez l'homme il ne nous a été permis d'opérer que sur du sang pathologique, de l'étude duquel nous ne voyons aucun inconvénient d'inférer des conclusions à l'égard du sang normal. 50 grammes de sang pneumonique, extrait par des ventouses scarifiées, et pris en un caillot dense et résistant sont broyés avec du sable et traités successivement par nos méthodes pour la préparation du chlorhydrate. Le résultat a été identique avec d'autres sangs. Nous dirons, en passant, que dans cette expérience, le sang était assez riche en chlorures pour avoir donné à la teinture oxalique d'hématine la faculté de former au bout de vingt-quatre heures, par le simple repos, sans évaporation, des cristaux de chlorhydrate visibles à l'œil nu, tapissant les parois du récipient. (Voir planche I, fig. 3.)

Nous avons passé en revue quelques sangs de la série animale, le sang de porc, le sang de cochon d'inde, le

sang de lapin. Ils nous ont donné des résultats identiques sur lesquels nous n'insisterons pas. Nous avons pensé que le sang de cochon d'inde qui donne une hémoglobine cristallisant sous forme de tétraèdres, donnerait peut-être des cristaux de chlorhydrate de forme particulière. Nous n'avons obtenu que de petits prismes aplatis, tronqués à leurs extrémités et groupées en étoiles.

En terminant ce chapitre, nous devons signaler une erreur dans l'article *sang* du dictionnaire de Wurtz (20^e fascicule, page 1417) : c'est par erreur qu'il a été écrit que le sang est coagulé par l'alcool fort dans la préparation de notre hématine, et par erreur qu'il a été dit que nous préparions l'oxalate d'hématine, lequel n'existe pas.

CHAPITRE VI

RECHERCHES DE L'HÉMATINE DANS LES LIQUIDES PATHOLOGIQUES

Caractériser l'hématine dans un liquide quelconque est un problème facile à résoudre avec le procédé d'extraction que nous avons indiqué. Nous nous contenterons des caractères spectroscopiques sans chercher à l'isoler à l'état pur. On comprend facilement, en effet, que les traces d'hématine dans les crachats des pneumoniques ou d'aploplectique, exigeraient trop de temps et de patience pour être isolés et soumis à la réaction de l'acide chlorhydrique.

Supposons une urine contenant un peu de sang, on peut directement au spectroscope caractériser l'hémoglobine si elle est en quantité suffisante, qu'elle soit à l'état d'oxyhémoglobine ou d'hémoglobine réduite. Toutefois, si les matières colorantes de l'urine sont trop abon-

dantes cette réaction n'a plus sa valeur, aussi bien que l'évaporation par la chaleur qui entraîne l'hématine mais ne la montre pas évidente au milieu du liquide coloré imprégnant le coagulum.

Il faut alors procéder de la façon suivante : On ajoute à l'urine une certaine quantité d'une solution de chlorure de zinc. On ajoute de l'ammoniaque avec ménagement, de manière à précipiter de l'oxyde de zinc qui entraîne toutes les matières colorantes.

C'est la première partie du procédé de Jaffé pour extraire l'urobiline de l'urine.

Supposons le cas le plus complexe, une urine contenant de l'urobiline en notable quantité, et contenant du pigment sanguin à l'état d'hématine ou à l'état d'hémoglobine.

La laque zincique formée au sein de l'urine sera recueillie sur un filtre et lavée à l'eau, puis traitée par l'alcool pour enlever l'eau, puis par l'éther chargé d'acide oxalique qui décompose la laque et s'empare seulement de l'hématine. Cette teinture peut être examinée au spectroscope, elle offrira la bande caractéristique des solutions acides d'hématine. Avec de l'ammoniaque on peut lui donner les caractères spectroscopiques des solutions alcalines, que nous étudierons en chimie légale. Si la quantité de pigment est suffisante, on pourra faire des cristaux de chlorhydrate en ajoutant deux gouttes d'éther chargé d'acide chlorhydrique et faisant évaporer sur l'eau. Nous n'insistons pas sur le procédé qui a été l'objet d'une étude spéciale. Au lieu de chlorure de zinc dans la première partie du traitement, on aurait pu employer du chlorure de calcium, que l'on aurait décomposé par quelques gouttes de potasse. La

laque calcique aurait été traitée comme laque zincique par l'eau, l'alcool, puis par l'éther à acide oxalique.

Pour le liquide d'un kyste hématique la marche à suivre est identique.

Les crachats seront soumis à un traitement un peu différent. Il peut être souvent intéressant de distinguer, dans le crachoir d'un malade, l'hématine du suc de réglisse ou du chocolat qui peuvent colorer d'une façon identique le mucus des produits d'expectoration.

Le mucus au sein duquel nagent les flocons d'hématine est insoluble dans l'acide acétique, de telle sorte que la réaction de l'hémimine s'obtiendrait difficilement. L'éther acide a peu d'action sur cette hématine précipitée. Il faut traiter les crachats par l'alcool fort alcalinisé à l'aide de l'ammoniaque; on chauffe; on dissout alors l'hématine, que l'on reconnaît à ses caractères spectroscopiques. En ajoutant de l'acide acétique de manière à saturer l'ammoniaque, on aura les caractères de l'hématine acide.

Ce coup d'œil général sur la reconnaissance du sang ou de l'hématine dans les liquides pathologiques, suffit, aux praticiens, sans plus longue dissertation.

CHAPITRE VII.

RÉFLEXIONS SUR LES AFFINITÉS DE L'HÉMATINE.

Que ressort-il tout d'abord de ces premières recherches que nous avons effectuées sur le dérivé de l'hémoglobine du sang? D'après les faits que nous venons d'exposer, devons-nous envisager l'hématine comme une base organique susceptible de jouer également le rôle d'acide vis-à-vis des bases énergiques? Les résultats

obtenus ne semblent pas autoriser à notre sens des conditions aussi absolues. Des propriétés de l'hématine ressort avec toute évidence son affinité spéciale pour l'acide chlorhydrique et ses homologues, sans que l'on puisse soupçonner de combinaison possible avec les autres acides. L'hématine est-elle en solution dans l'éther ou l'alcool acide, elle est à l'état de simple dissolution. Il suffit d'agiter la teinture éthérée acide (1) d'hématine avec de l'eau pour obtenir un précipité d'hématine. La teinture alcoolique acide étendue d'eau laisse également précipiter des flocons d'hématine. L'hématine est-elle en solution dans l'alcool ou l'éther acide par l'acide chlorhydrique ou ses analogues, nous pouvons envisager alors la dissolution comme une dissolution de chlorhydrate dans un excès de HCl. Notre procédé de préparation confirme cette manière de voir. En abandonnant sur l'eau la teinture éthérée d'hématine tenue en dissolution, soit par l'acide chlorhydrique, soit par l'acide bromhydrique, que faisons-nous? Nous permettons à l'excès d'acide de se dissoudre dans l'eau par diffusion, de telle sorte qu'il arrive un moment où le chlorhydrate et le bromhydrate ne trouvent plus l'excès d'acide propre à équilibrer la solution, où ils précipitent. Si la soustraction de l'excès d'acide est rapide, comme on peut le réaliser par l'agitation avec l'eau de la teinture éthérée, il se précipite des cristaux très-petits; si elle est lente, comme dans la simple diffusion, les cristaux sont volumineux. Les conditions physiques qui président au phénomène de la cristallisation trouvent ici leur application comme ailleurs.

(1) J'entends l'acidification par des acides autres que les acides chlorhydrique, bromhydrique.

Nous ajouterons encore que le chlorhydrate d'hématine ne se dissout pas en toutes proportions dans l'éther à acide chlorhydrique, de même que la quinine, par exemple, ne se dissout pas en toutes proportions dans l'eau alcoolisée. Plus l'éther sera riche en acide, plus il dissoudra de chlorhydrate; plus l'eau sera riche en alcool, plus elle dissoudra de quinine. Et de même que si, par un moyen quelconque, on enlève à la solution hydralcoolique de quinine une partie de son alcool, on amène la précipitation d'une partie de l'alcaloïde, de même si l'on enlève à l'éther une partie de son acide chlorhydrique, nous amènerons la précipitation d'une partie du chlorhydrate. Nous avons réalisé cette soustraction d'acide simplement par l'eau, nous aurions pu le faire par l'éther ammoniacal, par exemple. Dans une expérience, en effet, nous avons obtenu plusieurs cristallisations successives de chlorhydrate d'hématine, en soumettant alternativement au repos et à une addition de quelques gouttes d'éther ammoniacal une teinture étherée d'hématine dans l'acide chlorhydrique. Nous aurions pu, avec un peu de patience, décolorer complètement la liqueur.

Malgré l'éloquence des faits d'expérience que nous rapportons, je sais bien que des chimistes scrupuleux hésiteront peut-être à rejeter la combinaison acide d'hématine (chlorhydrate acide), comme nous le faisons. La dissolution du chlorhydrate d'hématine dans l'excès d'acide chlorhydrique s'effectue-t-elle, demandera-t-on, sans modification de la température? Autrement dit n'a-t-on constaté aucun phénomène thermique dans la dissolution du chlorhydrate? Évidemment les phénomènes calorifiques ont leur importance. Nous convenons que les lois de la thermo-chimie, qui ont conduit Berthelot

à des interprétations si remarquables vis-à-vis des réactions chimiques, devraient également donner à nos conclusions leur rigueur et les rendre indiscutables ; mais dans le cas actuel, l'impossibilité de soumettre notre réaction à des moyens calorimétriques est un fait tellement évident, qu'il faut accepter des raisons d'un autre ordre.

L'hématine est pour nous un de ces corps à fonction complexe, que les affinités ne peuvent ranger ni dans les bases proprement dites, ni dans les acides. Comme le formio-nitrile (acide cyanhydrique) elle paraît avoir des affinités toutes spéciales pour l'ammoniaque et l'acide chlorhydrique, sans s'unir pour cela aux autres acides. L'hématine est très-certainement un amide de fonctions complexes.

CHAPITRE VIII

LES SELS D'HÉMATINE EN MÉDECINE LÉGALE

Il est superflu d'apprécier ici l'importance pour le médecin légiste de reconnaître rapidement et sûrement une tache de sang dans une expertise médico-légale, comme il est inutile de nous arrêter sur chacun des réactifs proposés pour résoudre ce problème. Nous voulons seulement jeter un coup d'œil pratique sur cette question pour faire ressortir les ressources actuelles de la science, et mettre en évidence la marche à suivre par l'expert dans une recherche de cette nature, en nous appuyant sur les propriétés de l'hématine.

Nous laissons donc de côté l'étude des caractères physiques des taches de sang, faite d'ailleurs dans tous les livres de médecine ou de chimie légale.

Nous ne dirons rien des éléments figurés, globules rouges, globules blancs qui ont été si bien étudiés par les micrographes et spécialement par M. Ch. Robin, ni des réactions générales plus ou moins incertaines de la matière colorante du sang, qui nous entraîneraient à copier les auteurs et à faire un historique suranné de faits bien connus.

Le chimiste expert, requis par la justice, possède à son service deux groupes de réactions fondamentales pour caractériser d'une façon nette et indiscutable une tache de sang. Ce sont les caractères spectroscopiques, soit de l'hémoglobine, soit de l'hématine et des caractères microscopiques des sels cristallisés d'hématine. Nous voulons mettre en relief ces points importants qui sont la pierre de touche, seule valable pour mettre à l'abri la conscience de l'expert et donner à ses conclusions une rigueur légale. Nous discuterons les manipulations que nous avons expérimentées, afin d'établir, une fois pour toutes, le mode opératoire à suivre, sans s'exposer à des tâtonnements. Que de chimistes habiles en effet, laissent échapper ces remarquables cristaux d'hémine, faute de suivre une méthode régulière et raisonnée, et envisagent à tort cette réaction comme capricieuse !

Étant donnée une tache que l'on soupçonne être du sang, l'expert découpera le tissu sur lequel elle se trouve, ou raclera avec précaution la surface de l'objet maculé. Ces parcelles de sang qui ont un aspect variant du rouge au brun seront déposées dans un petit tube dont la partie inférieure a été effilée à la lampe et fermée inférieurement. On a rempli d'eau le tube un peu au-dessus de la partie effilée. Au contact de l'eau la matière colorante, la matière albumineuse et un petit flocon fibrineux se détachent. Ce petit flocon fibrineux est

facile à reconnaître à ses caractères généraux (acide nitrique, azotate et azotite de mercure). On examinera alors au spectroscope la solution d'hémoglobine. On obtiendra ou les bandes de l'oxyhémoglobine ou celle de l'hémoglobine réduite. *Avec très-peu de sang*, on obtiendra cette réaction spectroscopique déjà si précieuse, grâce à ce petit tour de main. L'hémoglobine oxygénée, on le sait, donne deux bandes d'absorption comprises entre D. et E. L'hémoglobine réduite donne une seule bande comprise entre les deux précédentes.

On chauffera ensuite la solution d'hémoglobine qui se troublera par coagulation de l'albumine.

Ce mode d'opérer a toujours donné entre les mains de M. Glénard, de Lyon, les plus brillants résultats.

Nous arrivons à une deuxième manipulation importante qui doit compléter l'étude spectrale de l'hémoglobine par la mise en évidence des cristaux de chlorhydrate.

On prend un tube que l'on effile à la lampe sur une longueur de un centimètre, de manière à ce que la partie effilée soit capillaire et retienne de l'eau grâce à la capillarité. On verse de l'eau distillée jusqu'un peu au-dessus du niveau de la partie renflée. La tache découpée dans le tissu ou isolée par raclage du corps imperméable sur laquelle elle s'est séchée, est portée à la surface de l'eau dans le tube. Quelques instants de macération suffisent pour que l'on voie se détacher des stries de matière colorante, qui teintent le liquide en se diffusant. Soufflant alors par la grosse extrémité du tube, on dépose une goutte sur la lame microscopique; on ajoute une goutte d'une solution de sel marin au 1/1000^o puis on fait évaporer *doucement presque à siccité*. On évite de chauffer trop, afin que le liquide ne se trou-

ble pas. La coagulation albumineuse est défavorable à la formation des cristaux d'hémine. On recouvre la goutte, réduite à une goutte, de la lamelle de verre, et on apporte une goutte d'acide acétique cristallisable, qui gagne la matière colorante par capillarité entre les deux lames. On fait bouillir avec précaution et l'on regarde au microscope. Si l'on ne voit pas de cristaux, on ajoute de nouveau une goutte d'acide glacial. Chauffant encore et portant sous le microscope, on voit généralement après ce deuxième apport d'acide les cristaux caractéristiques d'hémine. Si les cristaux n'apparaissent pas encore on ajouterait encore de l'acide cristallisable, on chaufferait encore avec précaution et on examinerait au microscope. Les lamelles rhomboïdales d'hématine chlorhydrate se voient très-nettement à un grossissement linéaire de 240-250. (Voir pl. II, fig. 2).

Il est indispensable pour réussir dans cette opération d'éviter un trop grand excès de sel marin qui empêche la matière colorante dans une cristallisation en masse. Il faut que l'acide acétique employé soit l'acide glacial monohydraté, sinon la décomposition du chlorure est plus difficile. On peut échouer complètement par l'emploi d'un acide trop faible. Avant d'apporter entre les deux lames l'acide acétique, il faut avoir soin également d'évaporer presque à siccité, sinon l'eau restant contribuera à étendre l'acide. Nous retombons dans l'inconvénient que nous venons précisément de signaler.

Il faut éviter également tout échauffement de nature à produire un mouvement brusque dans le sein de la matière en expérience. On comprendra la nécessité d'apporter plusieurs fois de l'acide acétique cristallisable sur la préparation, si l'on songe qu'il est utile de dégager l'hématine de la matière albuminoïde où elle

est engagée, de dissoudre en un mot les parties insolubles qui retiennent la matière colorante.

Nous ajouterons, comme dernière précaution, que si le sang est trop alcalin par un commencement de putréfaction par exemple, il faut saturer l'alcalinité par un peu d'acide acétique avant de faire évaporer sur la lame. Nous avons vu que les alcalis modifient profondément l'hématine à chaud,

Erdmann (1) en 1862 a donné ces règles d'opérer, qui permettent de caractériser une trace de sang en quelques instants. Nous n'insisterons pas sur les avantages d'exécuter la réaction directement sur la lame microscopique et sur cette intervention à plusieurs reprises de l'acide cristallisable qui assure la décomposition du chlorure. Erdmann n'a eu qu'un tort qui peut rendre le procédé infidèle; il employait une solution de chlorure à 1/20. C'est beaucoup trop.

Brucke (2) est le premier qui tira parti de la réaction de Teichmann (formation des cristaux d'hémine) pour reconnaître les plus faibles traces de sang et par suite apporter une donnée précieuse en médecine légale. Voici comment il opérait. Inutile d'ajouter que sa méthode est très-inférieure à celle d'Erdmann: « On fait tremper la tache, dit-il, dans l'eau distillée, puis on introduit dans un verre de montre une partie du liquide coloré obtenu; on ajoute quelques gouttes d'eau salée et l'on fait sécher dans le vide sur l'acide sulfurique. Après dessiccation, on examine le résidu au microscope afin de s'assurer qu'il ne s'y trouve rien qui ressemble aux cristaux à obtenir. Ayant ainsi reconnu l'absence de toute matière pouvant donner lieu à une confusion,

(1) *Journal prakt., Chem.*, 1862, p. 4.

(2) *Chem. Centrallil.*, t. I, p. 242.

on ajoute de l'acide acétique glacial, on fait évaporer au bain-marie à 100°, puis on verse quelques gouttes d'eau distillée et l'on place sous le microscope. Si le verre de montre est trop plein, ajoute Brücke, pour se prêter facilement à l'examen, on en répartit le contenu sur plusieurs objectifs et l'on recouvre avec des verres minces. »

Aujourd'hui les chimistes suivent le mode opératoire indiqué par Erdmann et obtiennent toujours un bon résultat en s'entendant rigoureusement à ses prescriptions. Nous n'hésitons pas à dire que les succès signalés entre les mains de chimistes sérieux ne proviennent que de leur négligence à suivre une marche ponctuelle et invariable. Tantôt chauffant trop, tantôt ne chauffant pas assez, tantôt employant une solution saline trop concentrée ou un acide acétique dilué, ils s'exposent ainsi infailliblement à des mécomptes. Blondlot (1) dans une étude très-minutieuse du procédé d'Erdmann est arrivé à conclure que les cristaux d'hémine s'obtiennent rigoureusement toutes les fois que l'on opère avec du sang qui n'est pas altéré.

Quand le sang n'a pas subi une trop longue putréfaction, quand les taches de sang n'ont pas été coagulées par la chaleur, lorsqu'elles ne sont pas trop vieilles on obtient infailliblement les cristaux d'hémine.

D'une façon générale quand le sang n'est pas coagulé, il faut éviter sa coagulation en évaporant lentement la goutte sur la lame microscopique. Il se fait autour de la goutte une zone de substance desséchée d'un rouge de sang qui augmente à mesure que l'évaporation

(1) Blondlot, Tachisdesang. *Journal de pharmacie et de chimie*, 5^e série, t. VII, 1868.

avance. Nous avons remarqué que cette zone est transformée en une couche cristalline par l'intervention de l'acide acétique. Le centre de la goutte encore visqueux dilue suffisamment l'acide acétique pour que son action y soit plus difficile.

Sur plus de 20 essais que nous avons faits, aucun ne nous a mis en défaut. Nous nous étonnons donc que ce procédé si simple trouve, chez beaucoup d'esprits, sinon de l'opposition du moins de l'indifférence.

Si le sang est coagulé il faudra traiter de suite par l'acide acétique, de manière à dissoudre la matière albuminoïde. On s'aide pour cela de la chaleur. On ajoute une goutte de solution au 1/1000 de sel marin et l'on évapore comme précédemment jusqu'à siccité. On recouvre de la lamelle et l'on fait intervenir l'acide acétique cristallisable.

Quoique les cristaux d'hémine ne puissent pas être confondus facilement avec d'autres cristaux, il est bon de s'assurer par le microscope si avant le traitement par l'acide acétique on ne voit pas de cristaux. Inutile de résumer les propriétés générales de l'hémine, sur lesquelles nous avons dans un autre paragraphe insisté longuement. On pourra s'assurer sous le microscope s'ils sont insolubles dans les divers véhicules et les divers acides étendus, s'ils sont solubles dans la potasse ou la soude caustique.

Si l'on ne possède qu'une trace imperceptible de sang, il va s'en dire qu'on ne cherchera pas à la faire macérer dans le tube effilé. Cette dilution trop considérable de la matière colorante pourrait nuire au résultat. On se contente de faire macérer la tache dans une goutte d'eau, directement sur la lame microscopique.

Quand le tissu est dépouillé de la matière colorante, on ajoute une faible goutte d'une solution au 1/1000 de chlorure de sodium, on poursuit l'opération comme nous avons dit.

Nous avons cherché, comme l'on pense, à tirer parti en médecine légale de notre réaction avec l'éther chargé d'acide chlorhydrique. Malheureusement, l'éther ne dissolvant pas l'albumine, reste sans action sur une tache desséchée, où la matière colorante est engagée dans les principes protéiques. A propos du traitement du sang coagulé par l'éther acide (Voir préparation de l'hématine, page 26), nous avons insisté sur l'état moléculaire particulière de la matière albuminoïde, le plus favorable à l'extraction du pigment. Le sang desséché abandonne à peine des traces à de l'éther saturé d'acide.

Husson, dont nous avons précédemment (Voir page 56) critiqué et rejeté des conclusions sur les sels d'hématine, a proposé l'emploi du bromure ou de l'iodure de potassium à la place du chlorure dans les recherches médico-légales. Il prétend former un bromhydrate et un iodhydrate d'hématine dans ces conditions.

Déjà W. Cuning, J. Van Genes (1), en traitant du sang par l'iodure de potassium précipitant par l'acétate de zinc, et faisant réagir sur le précipité de l'acide acétique, avaient obtenu des cristaux d'hémine. Pour cela ils n'avaient pas conclu à la formation d'iodhydrate.

Nous avons reconnu que sans chlorure les cristaux d'hémine ne se formaient pas dans l'expérience de

(1) Zeitschrift für analytische Chemie. t. X. p. 508.

W. Cunning et J. Van Genns. Dans les essais d'Husson, nous retrouvons aussi les chlorures qui souillent en quantité plus ou moins faible les solutions d'iodure et de bromure.

Ce chimiste emploie des solutions au $1/20^e$; 1 0/0 de chlorure dans les iodure ou bromure donnera des solutions de chlorure au $1/2$ millième qui sont suffisantes pour donner des cristaux de chlorhydrate.

Nous avons, d'ailleurs, opéré avec de l'iodure et du bromure exempts de chlorure sans obtenir les cristaux signalés par Husson. Plus de doute pour nous, la confusion a été poussée par cet expérimentateur jusqu'à ses dernières limites.

Il est donc inutile pour caractériser une tache de sang de recourir à des solutions salines qui doivent aux chlorures la propriété de donner de l'hémine.

Nous concluons de nos expériences que le procédé que nous avons décrit minutieusement est le seul logique, rationnel, pour les cristaux de chlorhydrate si précieux en médecine légale.

Réactions spectrales. — Un autre groupe de caractères très-importants, lorsque l'on dispose de quantités de sang suffisantes, ce sont les réactions spectrales de l'hématine. Nous les rappelons brièvement. Elles sont largement exposés dans tous les livres de chimie biologique.

Les solutions alcalines (aqueuses, alcooliques ou éthérées) sont dicroïques, vert-olive en couches minces, rouges en couches plus épaisses. Les solutions alcooliques ou éthérées acides sont brunes, non dicroïques.

Les deux espèces de solution ont leur minimum d'absorption au rouge extrême jusqu'à la raie B, et leur maximum d'absorption pour le violet. Jusqu'à une concentration de 1 gramme pour 6667 centimètres cubes, l'hématine alcaline sous une épaisseur de 1 centimètre offre une raie d'absorption entre C et D. En solution alcoolique ou éthérée acide, il y a une raie étroite partagée en deux moitiés par la raie C.

Une réaction spectrale remarquable des solutions d'hématine et qui est peu connue, est celle que l'on obtient sous l'influence de l'acide cyanhydrique. On dissout de l'hématine dans l'eau ou l'alcool, à la faveur de l'ammoniaque ou de la potasse. Si on ajoute à ces solutions un grand excès d'acide cyanhydrique, la teinte dicroïque disparaît, en même temps qu'une coloration rouge de sang se manifeste, coloration peut-être plus vive avec l'ammoniaque qu'avec la potasse.

Au spectroscope on reconnaît une large bande d'absorption, un peu différente de celle de l'hémoglobine réduite. Cette dernière va de 98 à 114 du micromètre (100 portant sur la raie du sodium). La solution d'hématine cyanhydratée va de 106 à 120.

Nous bornons là ces considérations analytiques vis-à-vis de l'hématine. Nous savons préparer ce corps important. Nous connaissons ses affinités. Nous savons le caractériser en quantité très-faible. Il nous reste à torturer la molécule pour en saisir les dédoublements. Ce sera l'objet de prochaines études.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION.....	5
CHAPITRE I. Historique.....	11
CHAPITRE II. Préparation de l'hématine (Procédés Cazeneuve).....	17
CHAPITRE III. Propriétés générales de l'hématine.....	30
CHAPITRE IV. Sels définis d'hématine.....	41
§ I. Chlorhydrate d'hématine.....	41
§ II. Bromhydrate d'hématine.....	51
§ III. Iodhydrate d'hématine.....	53
CHAPITRE V. L'hématine ne donne pas de combinaison définie avec tous les acides.....	54
CHAPITRE VI. Recherche de l'hématine dans les liquides pathologiques.....	62
CHAPITRE VII. Réflexions sur les affinités de l'hématine.....	64
CHAPITRE VIII. Les sels d'hématine en médecine légale.....	67

LÉGENDE EXPLICATIVE DES PLANCHES

PLANCHE I.

- FIG. I. Chlorhydrate d'hématine, obtenu en faisant réagir l'acide acétique par l'hématine pure en présence du sel marin.
- FIG. II. Chlorhydrate d'hématine, obtenu en abandonnant à l'évaporation sur l'eau la teinture étherée d'hématine en dissolution, à la faveur de l'acide chlorhydrique.
- FIG. III. Chlorhydrate d'hématine, obtenu par la réaction spontanée et lente de la teinture étherée d'hématine dissoute, à la faveur de l'acide oxalique sur le chlorure de sodium du sang.
- FIG. IV. Bromhydrate d'hématine, obtenu par l'action de l'éther faiblement acidulé par l'acide bromhydrique sur l'hématine récemment précipitée.

PLANCHE II.

- FIG. I. Chlorhydrate d'hématine, obtenu par la réaction sur l'hématine pure de l'alcool, additionné de quelques gouttes d'acide chlorhydrique.
- FIG. II. Chlorhydrate d'hématine (Hémine de Teichmann) obtenu en traitant le sang par l'acide acétique cristallisable en présence du chlorure de sodium.
- FIG. III. Bromhydrate d'hématine, obtenu par la réaction sur l'hématine pure de l'alcool additionné de quelques gouttes d'acide bromhydrique.
- FIG. IV. Iodhydrate d'hématine, obtenu en faisant passer un courant d'acide iodhydrique sur de l'hématine pure récemment précipitée en suspension dans l'éther, puis agitant avec de l'eau distillée la teinture étherée.

1



2



4



Pl. II

1



2



3



4

